

**A kedvezőtlen téli időszakok lehetséges fiziológiai és túlélésre gyakorolt
hatásainak vizsgálata a hazai gyöngybagoly (*Tyto alba* Scop., 1769)
populáción**

Doktori értekezés

Készítette: Klein Ákos

Témavezető: Dr. Török János (ELTE, Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék)

Külső konzulensek: Dr. Mátics Róbert (PTE, Orvosi Biológiai Intézet)

Dr. Major Ágnes (MTM, Molekuláris Ökológiai Laboratórium)

Dr. Huszenicza Gyula (SZIE ÁOTK, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék)

ELTE TTK Biológia Doktori Iskola

Vezető: Prof. Erdei Anna

Zootaxonómia, Állatökológia, Hidrobiológia Doktori Program

Programvezető: Prof. Dózsa-Farkas Klára

Eötvös Loránd Tudományegyetem

Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék

Budapest, 2009

Munkámat támogató családomnak és barátaimnak ajánlom hálás köszönettel az alábbi mottóval

....„Virradtig maradtam így és csak bámultam addig.
Egyszerre szóltam: hát te mit kerestél
ezen a földön mily kopott regéket,
miféle ringyók rabságába estél,
mily kézirat volt fontosabb tenéked,
hogy annyi nyár múlt, annyi sok deres tél
és annyi rest éj,
s csak most tűnik szemedbe ez az estély?”...

Kosztolányi Dezső: Hajnali részegség



Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4
1.1 Problémafelvetés	4
1.2 Célkitűzések, kérdések	8
2. A költőhelyek hatása a fiatal gyöngybaglyok túlélésére	9
2.1 Bevezetés	9
2.2 Anyag és módszer	12
2.3 Eredmények	15
2.3.1 Gyűrűzési aktivitás és adatfeltárás	15
2.3.2 A költőhely hatása	15
2.3.3 A kikelési idő hatása	16
2.4 Eredmények értékelése	17
3. Fiziológiai kapcsolatok	21
3.1 Bevezetés	21
3.2 Anyag és módszer	25
3.3 Eredmények	28
3.3.1 Pajzsmirigy hormonok mintázatának leírása	28
3.3.2 Hőmérsékleti alkalmazkodás vizsgálata fogságban tartott egyedeknél	32
3.4 Eredmények értékelése	35
3.4.1 Pajzsmirigy hormonok mintázatának leírása	35
3.4.2 Hőmérsékleti alkalmazkodás vizsgálata fogságban tartott egyedeknél	38
4. Populációgenetikai kapcsolatok	41
4.1 Bevezetés	41
4.2 Anyag és módszer	45
4.2.1 Mikroszatellit primerek tesztelése	45
4.2.2 Palacknyak-hatás vizsgálat	47
4.3 Eredmények	50
4.3.1 Mikroszatellit primerek tesztelése	50
4.3.2 Palacknyak-hatás vizsgálat	55
4.4 Eredmények értékelése	59
4.4.1 Mikroszatellit primerek tesztelése	59
4.4.2 Palacknyak-hatás vizsgálat	61
5. Következtetések és kitekintés	66
6. Köszönetnyilvánítás	69
7. A dolgozat vázát alkotó saját közlemények	70
8. Irodalomjegyzék	71
9. Mellékletek	87
9.1 melléklet az evolúciós mechanizmusokról	87
9.2 melléklet a pajzsmirigy hormonok metabolizmusáról	90
9.3 melléklet a DNS-laboratóriumi módszerekről	92
9.4 melléklet a palacknyak-hatást kimutató statisztikai eljárásokról	94
10. Összefoglalás	95
11. Summary	97

1. Bevezetés

1.1 Problémafelvetés

Az élőlények biogeográfiai elterjedésének egyik fontos korlátozója a klíma, azon belül is a hőmérséklet (Pörtner 2002, Wilmer *et al.* 2005). A földtörténeti közelmúltban lejátszódott pleisztocenkori eljegesedés számos példát szolgáltat arra, hogy fajok elterjedése Európában hogyan zsugorodott allopatrikus refúgiomokba (Ibériai-félsziget, Itália, Balkán-félsziget), majd tágult ki újra a klimatikus viszonyok megváltozásával. A pillanatnyilag elfogadott elképzelés szerint ez az általános állatföldrajzi mintázat vonatkoztatható az e dolgozat tárgyát képező gyöngybagolyra (Voous 1950, 1988), és más strigid baglyokra is (pl. macskabagoly *Strix aluco*, Brito 2005). Nagyobb evolúciós időléptéket tekintve a fajok adaptív radiációja a kialakulási központ felől számos érdekes evolúciós kérdést vet fel: melyek a szelekciós-adaptációs válaszok, amelyek lehetővé teszik a kolonizációt? Melyek a korlátozó evolúciós kényszerek, amelyek beszűkítik az adaptációs lehetőségeket? Melyek azok a molekuláris és fiziológiai válaszok, életmenet sajátosságok és ökológiai mintázatok, amelyek a megváltozott környezet hatására formálódnak?

A fajok hőmérséklet-függő elterjedésének és hőmérsékleti toleranciájának vizsgálatához új lendületet adott a globális klímaváltozás kutatása. A hőmérsékleti tolerancia vizsgálatok eredményei lényegesen eltérnek a különféle taxonómiai és szerveződési szinteken. Közös bennük mégis, hogy a hőmérsékleti tolerancia mind a hideg, mind a meleg irányban elsősorban a szervezet oxigén ellátása és hasznosítása által korlátozott (Pörtner 2002). Ez a mitokondriális szinten fellépő korlát a légzésből felvett oxigén felhasználásával végbemenő terminális oxidáció (ATP szintézis) blokkolásával (hidegben), vagy túlzott felpörgésével (melegben) magyarázható. Mindez tehát felfogható egy univerzális fizikai-kémiai kényszerként, amely az enzimek hőmérsékletfüggő kinetikáján alapszik. Az állandó testhőmérséklet fenntartására képes madarak és emlősök (homoiothermek) körében kialakulnak olyan regulációs folyamatok (verejtekezés, izomremegés, mitokondriális hőtermelés, hőszigetelő kültakaró), amelyek lehetővé teszik, hogy testhőmérsékletük ingadozása minimális legyen. A szabályozott testhőmérséklet azonban a komplexebb élőlényeknél nem mereven megszabott, fajra jellemző érték, hanem bizonyos határok között módosulhat, ami azt is eredményezi, hogy ugyanazon faj eltérő szélességi fokokon található populációi más hőmérsékleti toleranciát mutatnak (Hummel *et al.* 1997, Pörtner 2002, Wilmer *et al.* 2005). Vagyis ez adaptációs lehetőséget biztosít a kényszerek szabta tartományon belül. Összegezve, a hőmérsékleti tolerancia egyik komponense egy merev és általános fizikai-

kémiai kényszer, amely mellett számos „finomhangoló” adaptációs lehetőség képes a toleranciartományt módosítani, elsősorban endoterm csoportok esetén.

Ahogy a fenti sorokból is kirajzolódik, az evolúciós jelenségek leírása nem korlátozódhat csupán az adaptációk vizsgálatára. E dolgozatban is törekedtem minden lehetséges evolúciós mechanizmust (szelekció, adaptáció, kényszerek, véletlen) figyelembe venni magyarázataimnál (Jacob 1977, Gould és Lewontin 1979, Arnold 1992, Pigliucci és Kaplan 2000, Lenormand 2002; 9.1 melléklet). A kényszerek és az adaptív folyamatok számbavételét az teszi indokolttá, hogy a dolgozat modellfaja, a gyöngybagoly számos evolúciós kényszer közepette próbál adaptálódni a kontinentális európai klímához. Előre vetítve egy példát: a gyöngybagolyok csökkent zsírraktározó képessége (Piechocki 1960, Glutz von Blotzheim és Bauer 1980, Handrich *et al.* 1993a, de Bruijn 1994) pillanatnyilag egy merev fiziológiai kényszer, amely enyhe klímán neutrális vagy adaptív (inkább több utódot nevel mintsem szükségtelen vészartalékot képez), kontinentális klímán azonban maladaptív bélyegnek számít. E dolgozatban tehát a gyöngybagolyok adaptációs képességeit vizsgáltam az evolúciós kényszerek tükrében, lehetőség szerint a természetvédelmi vonatkozásokra is rávilágítva.

A gyöngybagoly félék (Tytonid baglyok) evolválódása a jelenlegi ismeretek szerint trópusi klíma alatt játszódott le (Voous 1988). A modern Tyto genusz a középső miocéntól kezdve ismert, kb. 15 millió évvel ezelőttről. A negyedidőszakból (korai Pleisztocén) az Olduvai-hasadékban találják meg a dolgozat tárgyát képező *Tyto alba* leletét (kb. 1,6 millió évvel ezelőttről; Brodkorb és Mourer-Chauviré 1984). A *Tyto alba* alfajok többsége és a többi 16 *Tyto* genuszhoz tartozó gyöngybagoly faj jelenlegi elterjedési térképét vizsgálva is arra a következtetésre juthatunk, hogy elsősorban trópusi és szubtrópusi területek fészkelő madara, másodsorban mérsékeltövi elterjedésű, de mindenképpen kerüli a hideg vagy szélsőségesen kontinentális klímát (König *et al.* 1999). Így nem találkozunk gyöngybagolyokkal Észak-Amerikában kb. a kanadai határtól északra, Észak-Európában és Ázsia belső kontinentális területein. Ismeretes, hogy a gyöngybagolypopulációk a kontinentális éghajlatú Európa területén időről-időre átmennek valamilyen mértékű populációs beszűkülésen, amelynek oka vagy egy hosszan tartó hóval borított időszak (Altwegg *et al.* 2003), vagy szórványosan bekövetkező szélsőségesen hideg telek (Altwegg *et al.* 2006). A mortalitási arányokat vizsgálva egy kaliforniai mérsékelt klímájú terület populációjánál 46,7%, 38,5% és 16,7% volt az első, másod majd harmad éves madarak mortalitása. Ugyanez az arány a kontinentális éghajlatú Európában jóval magasabb: 65-75%, 40-60% és 30-40% (Taylor 1994). A magyarországi vizsgálatok hasonlóan 50-70% és 30-60% közé teszik az első és a másodéves halálózási arányt (Mátics 2000). A gyöngybagoly evolúciós eredetét ismerve felmerül a

kérdés, hogy e faj milyen evolúciós mechanizmusok segítségével és milyen filetikus kényszerektől korlátozva képes tartósan fennmaradni a nálunk jellemző klímán?

A legfigyelemreméltóbb filetikus örökség, kényszer, hogy zsírtartalékaik csak a nettó testtömeg 5,3-6,6 %-át teszik ki, ellentétben más európai strigid baglyokkal, ahol ez 9 - 12,3% (Piechocki 1960, Glutz von Blotzheim és Bauer 1980, de Bruijn 1994). Kimutatták, hogy a fiókák fejlődése során kialakuló, a felnőttkorinál nagyobb testtömeg vízraktározásból, és nem valamilyen energiakészlet felhalmozásból adódik (Durant *et al.* 2008), ahogy ezt más fajoknál gyanítják. A fiókák fejlődése során a költőhely hőmérséklete a környezetinél 10 °C-kal is magasabb lehet, amit csőrön át történő evaporációval (hiperventilláció) tudnak enyhíteni. A táplálék hasznosításának hatékonysága szintén elmarad az előbbi összevetésben (75% a 76,5 ill. 80%-kal szemben, Ceska 1980). A gyöngybagoly alapanyagcseréje szempontjából a termoneutrális tartomány igen magas, 25-33 °C között van, és éhezés esetén zsírraktárai felélése előtt elkezdi felhasználni a szervezete saját fehérjeit (Handrich *et al.* 1993a, b, Thouzeau *et al.* 1999). Ennek oka megint csak részben a szervezet vízháztartásának fenntartására való törekvésben keresendő (Durant *et al.* 2008). A fehérjék lebontásakor katabolikus víz keletkezik, amely több hosszú távú vonuló madár esetén is lényeges szerepet játszik a dehidratáció elkerülésében (Landys *et al.* 2005). További evolúciós örökség, hogy tollazatuk hőszigetelő képessége valamelyest gyengébb, mint a hasonló vastagságú tolltakaróval rendelkező fajoké (McCafferty *et al.* 1997b). Lábakat nem fedi tollazat, ami télen szintén növeli a hővesztéséget. A leírtakból következik, hogy – mivel mindezek ellenére a gyöngybagolyok télire nem vonulnak el – a téli koplalást rövidebb ideig képesek elviselni, az állandó és magas testhőmérséklet fenntartása több energiájukba kerül, mint azonos méretű, a Strigidae családdhoz tartozó társaiknak. Mindez nagyobb téli mortalitást és a szélsőséges telekre adott érzékenyebb, nagyobb amplitúdójú populációméretbeli kilengést feltételez.

E nagy populációs kilengéseket a gyöngybagolyok magas reprodukzív allokációval és számos alkalmazkodásbeli sajátossággal kompenzálják. Európában (kivéve Nagy-Britanniát) átlagosan a párok 1/3-a költ kétszer ugyanazon költési szezonban (nem pótköltés!), és ez az arány magasabb a rágcsláló gradációs években (Taylor 1994). Magyarországon az első költés fészekalja 5-6, a második költése nagyobb, 5-9 tojásból áll (Kalotás 1998). A másodköltések aránya a kontinentális európai országokban magasabb, mint az enyhébb klímájú Nagy-Britanniában (Taylor 1994). Ennek azonban táplálékozásökológiai oka is van. A szigetországon elterjedt elsődleges zsákmányállat a csalitjáró pocok (*Microtus agrestis*), míg nálunk a mezei pocok (*Microtus arvalis*). Ez utóbbi nyár végére (a másodköltések idejére) éri el maximális abundanciáját, illetve a pockok zsákmányolhatósága is megnő, mivel a kiégett

gyepeken, learatott mezőgazdasági földeken feltűnőbb a mozgásuk. A brit csaltjáró pocok azonban a nyár végére megnövő magasabb vegetációban (óceáni klíma) jobban rejtve marad a légi vadászok elől. Hazánkban a viszonylag korai kezdésű első költés és az első költés kisebb tojásszáma (kis jelenlegi reprodukciós érték) lehetővé teszi, hogy még egy költés megtörténjen ugyanabban a szaporodási szezonban nagyobb fészekalijjal (nagyobb reziduális reprodukciós érték) a pocokgradációra időzítve. Ez a stratégia összességében magas utódszámot eredményez. Érdekes, hogy a fajon belül nem találunk egyértelmű kapcsolatot a populációkat limitáló telek milyensége és a produkált utódszám között. Az utódszám minden eddigi tanulmányban a költési időszakban várható táplálék elérhetőségtől és az - ezzel részben összefüggő - költésre alkalmas szezon hosszától függött. A malajziai olajpálma ültetvényeken, ahol nagy táplálékabőség és közel kiegyenlített klíma van egész évben, a párok többsége kétszer költ évi 7 utóddal átlagosan, míg az Egyesült Államok északi részén vagy Nyugat-Európában az évi 3-4 utód az átlagos (Taylor 1994).

A gyöngybaglyokra jellemző tojásméret a tojó testméretéhez viszonyítva szignifikánsan kisebb, mint az ugyanolyan méretű és szintén odúköltő más bagolyfajoké. A skóciai átlagos 17,9 g-hoz viszonyítva a gyöngybagolynak 24,6-25,5 g-os tojásokat „kellene” tojnia (Taylor 1994). Durant *et al.* (2004) vizsgálataiból tudjuk, hogy tojás szikképzés üteme (Yolk Deposition Rate) elmarad a gyöngybaglyokhoz hasonló nagyságú egyéb madarakétól (gyöngybagolynál kb. 13 nap, vörös vércse *Falco tinnunculus* 9 nap, szirti galamb *Columba livia* 5-8 nap), viszont emiatt a tojó tojásképzésre fordított napi befektetése relatíve kisebb, a tojások energiatartalma más fajokkal történt összehasonlításban kisebb, az érésnek induló folliculusok száma magas (25). Ez összességében nagy utódszámot és nagyfokú táplálékfüggő flexibilitást eredményez a lerakott tojásszámot, a másodköltés és pótköltés nagyságát tekintve. A tojásméret és a populációk földrajzi lokalizációja közötti összefüggésről gyöngybagolyra tanulmány nem ismert.

Csakígy nincsenek egzakt adatok az első és másodköltésből származó fiókák túlélésbeli különbségére, valószínűsíthető azonban mégis, hogy a másodköltésből származó, és sokszor csak október-novemberben kirepülő fiókák rosszabb eséllyel csöppennek bele a télbe, mint a júliusban már kirepült fajtársaik. Ennek oka esetleg a vadászati rutin és a felhalmozott testzsír hiányában keresendő.

Végezetül, a hideg hőmérsékleti viszonyok között történő hővesztesség minimalizálására alakult ki az arcfátyol „bezárása”, hiszen infravörös kamerával is kimérhető mértékben több hőt ad le a fej, mint a test bármely más része (McCafferty *et al.* 1998). Ennek oka a fejhez képest óriási méretű szemgolyók hőleadása. Nem kizárható továbbá, hogy a

gyöngybaglyok obligát odú-, majd épületben történő költése is összefügg a fokozott hővesztéssel. Egy épületben nappalozó gyöngybagoly 19%-os, míg egy tülevelű fa lombkoronájában pihenő 10%-os hőmegtakarításra képes ahhoz képest, mint ha szabadban töltené el ugyanazt az időt (McCafferty *et al.* 2001).

A dolgozatban a gyöngybaglyok kontinentális klímán történő alkalmazkodásának három elemét vettük górcső alá:

1. A költőhelyek hatása a fiatal gyöngybaglyok túlélésére és ennek lehetséges természetvédelmi vonatkozásai a szélsőséges telek hatására bekövetkező populációs összeomlások fényében.
2. A gyöngybaglyok téli hőmérsékleti adaptációjának vizsgálata a pajzsmirigy hormon szabályozáson keresztül.
3. A gyöngybaglyokat érintő genetikai palacknyak-hatás vizsgálata a populációs beszűküléseket okozó szélsőséges telek tükrében.

1.2 Célkitűzések, kérdések

A jelen munkával a magyarországi gyöngybagoly populáció téli túléléssel kapcsolatos alkalmazkodási mechanizmusait, ezek populációs következményeit próbáltam feltárni. Elsősorban arra voltam kíváncsi, hogy mik azok a legfontosabb faktorok, amelyek mind élettani, mind populációgenetikai szempontból jó kiindulási alapot jelentenek a gyöngybaglyok extrém téli időjáráshoz való alkalmazkodásának vizsgálatához. Lévéen fokozottan védett, emberi védelemtől függő faj, mindezek konzervációbiológiai jelentősége is a fókuszpontban volt. Miután e területen előzetes vizsgálatok még nem álltak rendelkezésre, így a jelen értekezés néhány pontjában az alapjelenségek feltárását, leírását céloztam meg. Három, egymástól viszonylag távoli tudományterületen merültek fel a következő kérdések, melyek egyben e dolgozat konkrét célkitűzései is.

1. A költőhelyek hatása a fiatal gyöngybaglyok túlélésére: A gyöngybagoly kultúrákövető faj, költési sikere nagyban függ az ember által kínált költőhelyek elérhetőségétől, minőségétől. Egy kedvezőtlen telet követő években a hazai populáció „talpra állása” feltehetően függ nemcsak a mesterséges költőhelyek számától, de minőségétől is. Egy rosszul megválasztott fajvédelmi terv (különbféle költőhelytípusok terjesztése: pl. költőláda, oszlopra szerelt kültéri láda, épületmegnyitás stb.) ökológiai csapdaként a populációt a kihalás felé tudja sodorni. Befolyásolja-e a baglyok túlélését a mesterséges költőhelyek minősége? Kimutatható-e szignifikáns különbség a

költőládában nevelkedő és az egész tornyot szabadon használó fiatal baglyok rövid távú túlélésében? Ha van valamilyen irányú különbség, akkor az befolyásolt-e a kirepülés időpontja által?

2. Fiziológiai kapcsolatok: A gyöngybagoly testtömegéhez képest bizonyítottan kevesebb zsírkészlet raktározására képes, mint a Strigidae családba tartozó többi mérsékeltövi bagolyfaj. Egy kedvezőtlen téli időszak alatt az egyedek túlélése függ a zsírraktározás és mobilizálás képességétől. A zsírraktározás és termoreguláció egyik meghatározó hormon-csoportja a pajzsmirigy hormonok. A baglyok pajzsmirigyhormon mintázatáról a szakirodalomban nem lelhető fel tanulmány. Lehetséges-e a gyöngybaglyokon a pajzsmirigyhormonok vizsgálata? Ha igen, akkor lehet-e karakterizálni a mesterségesen hideg illetve meleg környezetben tartott gyöngybaglyok pajzsmirigyhormon mintázatát? Milyen a gyöngybaglyok pajzsmirigyhormon mintázata korcsoportok és ivar szerint, illetve a fiókafejlődés sajátosságait tekintve? Mindezekből lehet-e következtetéseket levonni a termoreguláció és zsírraktározás tekintetében?
3. Populációgenetikai kapcsolatok: A hazai gyöngybagoly-populáció a többi európai populációhoz hasonlóan feltehetően palacknyak-hatáson megy át egy-egy kedvezőtlen tél során. A populációk egyedszámában beálló hirtelen drasztikus csökkenés sok esetben genetikai palacknyak-hatással jár együtt, amely sokszor a genetikai diverzitás jelentős szűkülését is jelenti. Ez a genetikai változás évek során a más régiókból bevándorló egyedek és mutációs mechanizmusok segítségével visszarendeződhet. A gyöngybagolyra e kutatás kezdetekor nem állt rendelkezésre megfelelő genetikai marker készlet (pl. mikroszatellit lokuszok), amelyek segítségével fel lehet tárni közelmúltban bekövetkezett genetikai palacknyak-hatást. Ki lehet-e dolgozni a gyöngybagolyra megfelelő mikroszatellit készletet? A populációgenetikai paraméterek utalnak-e kirívó genetikai elszegényedésre? Statisztikai eljárással kimutatható-e genetikai palacknyak-hatás?

2. A költőhelyek hatása a fiatal gyöngybaglyok túlélésére

2.1 Bevezetés

A megfelelő költőhelyválasztás a sikeres költés, ezen keresztül pedig a szülő madarak rátermettségének egyik meghatározó eleme (Li és Martin 1991, Paredes és Zavalaga 2001, Liebezeit és George 2002). A mesterséges költőhelyek biztosítása kritikus komponense lehet

azon fajok védelmének, amelyek számára a költőhelyek elérhetősége a fő limitáló faktor. Az ilyen fajok vagy nem építenek saját fészket és más madarak fészkeit foglalják el (pl. sólymok), vagy egy megfelelő beköltözésre kész odút kell elfoglalniuk (pl. papagájok, cinegék, légykapók, szarvascsőrű madarak, baglyok). Ez utóbbiak, az obligát másodlagos odúköltő madarak, talán a legismertebb olyan csoport, amelyek populációi erősen függenek az elérhető odvak számától és/vagy minőségétől az ember által használt környezetben (Eadie *et al.* 1998). Ha a költőhely elérhetősége és egy adott odúlakó faj lokális abundanciája között bizonyítható a pozitív kapcsolat, akkor a veszélyeztetett fajok megóvásának egyik lehetséges módja a mesterséges költőhelyek biztosítása (Newton 1994). A minőségében is megfelelő mesterséges költőhelyek számának gyarapításával növelhető mind a költő állomány, mind pedig a költési siker, mint ahogy a Portugália partjai mentén földbevált üregekben költő madeirai viharfecskénél (*Oceanodroma castro*) is kimutatták (Bolton *et al.* 2004). Más fajokon végzett tanulmányok szintén bizonyították, hogy pl. a Szumba szigetek nagy papagáj fajok abundanciája erősen függ a megfelelő költőhelyek számától (Marsden és Jones 1997). Más, de ehhez kapcsolódó összefüggésre világít rá az a tanulmány, amely az Ausztráliába behurcolt seregély (*Sturnus vulgaris*) és az őshonos odúlakó madarak (pl. rozella papagájok) üregekért folyó versengését tanulmányozta, a rozellákra nézve kedvezőtlen hatással (Pell és Tidemann 1997). A mesterséges költőhely kialakításának vizsgálatai során számos tanulmány bizonyította, hogy a faj számára csaknem annyi hátrány, mint amennyi előny jelentkezhet az ilyen jellegű természetvédelmi kezelések során (Møller 1989; Gowaty és Bridges 1991; Eadie *et al.* 1998; Mebs és Scherzinger 2000, Mänd *et al.* 2005). Szélsőséges esetben egy nem kellően megalapozott fajvédelmi terv és kezelés visszajára is fordulhat, és ökológiai csapdaként a védendő faj populációjának (rosszabb esetben magának a fajnak) a kihalásához vezethet, ha az állomány a nem megfelelő kezelés következtében a minimális életképes populációméret alá csökken (Schlaepfer *et al.* 2002).

A gyöngybagoly kozmopolita faj, és bár globálisan kihalástól nem veszélyeztetett, mint potenciálisan sérülékeny faj szerepel a Cites II. függelékében (<http://www.cites.org/eng/app/appendices.shtml>, 2008.05.25.) és az IUCN Vörös Listán is (<http://www.iucnredlist.org/search/details.php/48495/summ>, 2008.05.25.). Magyarországon fokozottan védett, és az 1970-es évektől csaknem minden nyugat-európai ország hangsúlyosan foglalkozik védelmével, elsősorban költőládakihelyezések segítségével. Észak Amerikában és a fejlett európai régiókban mintegy 50 éve kimutatható a gyöngybagoly állománycsökkenése (Bruce 1999). Számszerűsítve Európa több mint felén 1970 és 1990 között 20%-os állománycsökkenés volt detektálható, és ez idő alatt a faj kipusztult Máltáról

(Hagemeijer és Blair 1997). A természetvédelmi biológusok az intenzifikálódó mezőgazdaságot (Colvin 1985), a költőhely-vesztést és az erőteljes úthálózat fejlesztésből adódó közúti gázolásokat jelölik meg a legfontosabb mortalitási faktorok között (Mátics 2000, Fajardo 2001, Mátics 2004).

Európában a gyöngybagoly faodvakban történő költségeinek aránya igen alacsony (Taylor 1994). Ennek Magyarországon részben az lehet az oka, hogy a valamikori 80%-os erdőborítottság a 11. században 37%, majd a 19-20. századra 11%-ra csökkent (Lovász és Nagyvárad 1997, Somogyi 2000). A jelenlegi 19-20%-os erdőborítottság jelentős része a közephegységekre korlátozódik, ahol a zárt erdőállomány és a kb. 500-600 m tengerszint feletti magasság nem szolgáltat megfelelő élőhelyet a gyöngybagoly számára (Cramp 1985). A költőhelyek megfogyatkozása szempontjából legfontosabb fás társulások, a ligeterdők, fás legelők és erdősztyepp-foltok eltűnése volt a leghangsúlyosabb. Az idők során tehát a kárpát-medencei gyöngybagoly állomány áttért az épületekben, elsősorban templomtornyokban történő költésre, ami egyben azt is jelenti, hogy fennmaradása erőteljesen függ az emberi jóindulattól és egy állandó természetvédelmi kontrolltól. Magyarországon ez a kontroll egyfelől költőládák kihelyezéséből (Schmidt 1985, Nagy 1998, MME 2001), másfelől a teljes vagy részleges épület megnyitásokból áll (Mebs és Scherzinger 2000, Nagy 2001), és ez a két módszer alapvetően eltérő költőhelyet jelent a beköltöző bagolypárok számára (illusztrációt ld. 97. és 100. oldalon).

A gyöngybagoly a kontinentális éghajlatú Európa területén időről-időre átmegy valamilyen mértékű populációs beszűkülésen, amelynek oka lehet egy hosszan tartó havas időszak (Altwegg *et al.* 2003) vagy egy összességében átlagosnál szigorúbb tél (Taylor 1994, Altwegg *et al.* 2006). Az extrém telek, mint elsődleges limitálók nem hatnak ugyanolyan mértékben a különböző korosztályokra (Coulson *et al.* 2001, Altwegg *et al.* 2006). A gyöngybagolynál sincs ez másként, mivel az adult példányok mortalitása nagyobb amplitúdóval változik egy-egy szélsőséges tél hatására, mint a fiataloké (Altwegg *et al.* 2006). Ennek oka, hogy a fiatalok mortalitása egy átlagos tél alatt is magas, ellenben az adult (egy szaporodási szezont már megélt) madarak túlélése csak szélsőséges körülmények között csökken drámaian. A gyöngybagoly életmenet stratégiáját tekintve a hozzá hasonló nagyságú bagolyfajoknál nagyobb fészekaljat rak, több utódot repít, és évente nem ritka a két költés. Az így produkált nagy utódszámmal képes a faj kompenzálni egyfelől a fiatalok körében jellemző magas téli elhullást, másfelől az időnként fellépő populációs összeomlásokat. Ezt azonban csak akkor tudja megtenni, ha jó habitat és megfelelő számú és minőségű költőhely áll rendelkezésére (Bunn *et al.* 1982, Shawyer 1987, Taylor 1994).

Miután a hazai párok jelentős hányada (többsége?) mesterségesen kialakított és ember által fenntartott költőhelyen neveli utódait, érdemesnek találtuk megvizsgálni, hogy az alkalmazott védelmi módszerek között nincs-e a felnövekvő baglyok túlélését befolyásoló különbség. Ha ugyanis zömében olyan költőhelyet biztosítunk, ahol az utódok túlélése rosszabb, a populációban természetesen fellépő nagy negatív irányú kilengésekből történő visszatérési időt (rezilienciát) növeljük. Ez pedig végső soron a minimális életképes populációméret alá sodorhatja az állományt. Mindennek különösen nagy jelentősége van akkor, amikor a globális klímaváltozás hatására az időjárási szélsőségek gyakoribbá válnak (Bartholy *et al.* 2007a, b).

2.2 Anyag és módszer

Adatgyűjtés: Annak kiderítésére, hogy a Magyarországon különféleképpen kialakított mesterséges költőhelyeken kikelt gyöngybagoly fiókák eltérnek-e túlélési mutatóikban egymástól, egy 8 évre kiterjedő adatbázist használtunk. Az 1995 és 2003 közötti gyűrűzési adatokat a Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület Gyűrűző központja bocsátotta rendelkezésre. A jelölt gyöngybaglyokat magas arányban lehet visszafogni élve, mivel a gyöngybagoly antropofil és állandó madarunk (Mikkola 1983, Marti 1999). Továbbá szintén ennek köszönhetően nagy arányban kerülnek meg elhullott példányai is, így a megkerülések nagy száma miatt alkalmas e faj a jelölés-visszafogás módszerével történő vizsgálatra. Az így kapott adatok Magyarország teljes területét lefedték, és az EURING gyűrűzési normának megfelelően tartalmazták a gyűrűszámot, gyűrűzés idejét, helyét, a gyűrűzött és megtalált egyed korát, esetenként ivarát, kondícióját, a megtalálás körülményeit, földrajzi koordinátáit, az elhullás okát. Mivel azonban ezek az adatok nem szolgáltatott információt a madarak gyűrűzési helyéről (költőláda, templomtorony, padlás stb.), ezért a gyűrűzőktől személyesen kellett kideríteni a jelölés körülményeit. A 42 gyűrűző személy közül, akik ez idő alatt gyöngybaglyokat jelöltek, összesen 38-al sikerült kapcsolatba lépni, és 8130 jelölt gyöngybagolypéldányt tudtunk aszerint kategorizálni, hogy templomtoronyban lévő költőládban, vagy szabadon, padlásterén, süvegterben jelölték-e. A költőláda minden esetben a templomtorony belsejében, de szorosan a zsugáterre szerelt átlagosan kb. 0,25 m³ nagyságú deszkaládát jelent, ahol a kotlás és fiókafejlődés történik (csak a ládába tudnak bejutni a madarak). Minden más esetben a kotlás és fiókafejlődés az épület valamely - baglyok által szabadon kiválasztott - sarkában történt, ahol a madarak az épület egész belső légterét használhatták. A feldolgozott 8130 jelölt madárból összesen 437 példány került meg élve vagy elhullva, mindösszesen 511 esetben (egy egyedet többször is vissza lehet fogni

élve). A 437 visszafogott egyedből 297 volt fiókaként jelölve (rokonsági kapcsolatra való korrekció után 252 független adatpont).

Statistikai elemzés: Jelölt és visszafogható élőlények túlélési mintázatának egyik legérzékenyebb statisztikai megközelítése az erre a célra kifejlesztett MARK szoftver (White és Burnham 1999; Altwegg *et al.* 2003; Jehle *et al.* 2004). Ennek alkalmazása azonban nem lehetséges a jelen adatbázisra, mivel összesen 3 olyan megkerülési esemény volt a 297 fiókaként jelölt példányból, ahol legalább két visszafogást regisztráltak. A MARK program használatának pedig feltétele a számos többszöri visszafogás. Ezt a problémát kiküszöböli a túlélési idő elemzésére szolgáló statisztikai módszer (Survival Time Analysis (STA) vagy Failure-Time Analysis, StatSoft, Inc. 2006). Ez a módszercsalád alkalmas arra, hogy az időintervallum és gyakorisági adatok sajátos statisztikai eloszlását (legritkább esetben normál) kezelje úgy, hogy egyedileg jelölt objektumok ismételt megkerülésével dolgozik (Fox 2001). A túlélési-idő elemzéssel lehetőség van kettő vagy több csoport túlélési görbéjének összevetésére és az eltérések statisztikai tesztelésére. Hogy elkerüljük a rokonsági kapcsolatból eredő pszeudoreplikációt, hiszen számos testvérként jelölt egyed szerepelt az adatbázisban, a testvér fiókák változóinak értékét átlagolva vittük be az elemzésekbe Renner és Davis (2001) útmutatásának megfelelően. Így kaptuk meg a 252 független adatpontot, ahol 104 fiókat költőládában, 148-at pedig az épületben szabadon jelöltek.

Használt változók: költőhely (költőláda=KL, szabad templom torony=SzTT), relatív költés kezdet (évenként az első regisztrált tojásrakási dátum a nulla pont), a kikeléstől az adott év november elsejéig eltelt napok száma (november 1-et tekintettük a hideg téli időszak kezdetének). Továbbá a jelölés és megkerülés/visszafogás pontos dátuma, a megkerülési idő (=failure-time) és a megkerülés minősítése (uncensored vagy censored állapot). Komplettné vagy uncensored eseményről beszélünk, ha a vizsgált periódus alatt bekövetkezik a kérdéses esemény, ebben az esetben elhullva találunk meg egy korábban jelölt madarat. Inkomplettné vagy censored események közül a jobbra tolódott eset valósulhat meg ebben az elrendezésben, vagyis a vizsgálati periódus alatt egy egyednél nem következik be a kérdéses esemény egészen a vizsgálat végéig. Ekkor csak abban lehetünk biztosak, hogy a bekövetkezési idő (itt a madár elhullása) hosszabb lesz a legutolsó túlélési időnél. (A túlélési idő elemzéseknél előforduló „balra tolódott”, illetve az „elvesztett” (lost event) eset nem fordult elő az adatbázisban.) Vagyis az elhullva megkerüléseket ($n = 163$) uncensored, az élve visszafogásokat ($n = 88$) censored adatpontoknak tekintettük.

Miután a túlélési idő-elemzés nem alkalmas arra, hogy a megkerülési rátákban vagy gyűrűzési erőfeszítésben bekövetkező egyenlőtlenségeket korrigálja, ezért először nem

parametrikus statisztikai módszerekkel elemeztük az adatbázist (χ^2 teszt, Fisher Exact teszt, Zar 1974). Ezek segítségével fény derülhet a megkerülési arányokban történő torzításokra, amelyek félrevezethetnék a túlélési idő-elemzést.

A leghosszabb visszafogási periódus 2171 nap volt. A fiókák kikeléstől számított első életévüket az alábbiak szerint osztottuk fel (1. táblázat). A gyűrűzés átlagosan a fiókák kikelést követő 40. életnapján történik, és ez az időpont az adott egyed túlélési történetének nulladik napja. Azok a fiatalok, amelyek 20-30 nappal később kerültek visszafogásra (60-70 napos korban) azok az egyedek, amelyek éppen elhagyják a fészekaljat (Roulin 1999a). Újabb 30 nap (az élet 90. napja körüli kor) az az időszak, amikor a fiatalok függetlenednek a szülői gondoskodástól (König *et al.* 1999) és a szülők abbahagyják az etetést. Így, a túlélési függvényben szereplő első 50 nap azt a túlélési időt jelenti, amíg a fiatalok függetlenednek. Az első 385 nap pedig az első túlélő évet jelenti.

1. táblázat A fiókák valós kora és az elemzésben szereplő túlélési idő közötti eltérés napokban. A stádiumok kialakítása követi a gyöngybaglyok életmenet sajátosságait.

	Kikelés	Gyűrűzés	Kirepülés	Fészken kívüli szülői gondoskodás	A kirepülést követő első év
A fiókák valós kora	0	~40	60	90	425
Túlélési idő	-	0	20	50	385

A túlélési idő elemzés kivitelezése során Fox (2001), Renner és Davis (2001) és Nur *et al.* (2004) módszertanát követtük. Az egyes alcsoportokra (fióka toronyban vagy ládában jelölve) illesztett különféle teoretikus eloszlások közül a Weibull eloszlás illeszkedett a legjobban, amely az egyik legszélesebb körben használt két paraméteres eloszlás a túlélési idő elemzéseknél (intervallumok száma 25, Fox 2001). Regresszió analíziseknél a fél-parametrikus Cox-féle regressziós modellt alkalmaztuk (semi-parametric Cox's regression hazard model), amely a Weibull eloszlást követő túlélési adatok esetében alkalmazandó technika (Kalbfleisch és Prentice 1980).

A csoportösszevetéseknél a következő null-hipotéziseket használtuk: a visszafogások gyakorisága nem függ a költőhely minőségétől, ahol a fióka kikelt és felnőtt. A kikeléstől a tél beálltáig tartó időszak (november 1.) nem befolyásolja a különböző költőhelyeken kikelő fiókák túlélését.

Nem valószínű, hogy a költőhely minőségnek a hosszú távú túlélésre lenne hatása, a biológiailag releváns következményeket sokkal inkább az első évben várhatjuk. Ezért a végső csoportösszevetés az első éves túlélésbeli különbségre koncentrál. Továbbá el szeretnénk volna

kerülni az abból adódó műterméket, hogy a költőládával nem felszerelt tornyokban a fiatalok sokkal könnyebben visszafoghatók egy második ellenőrzés során életük első 70 napjában, mint a költőládában nevelkedő fajtaik. Ez utóbbiak ugyanis kiugranak a ládából az ellenőrző személy megérkeztekor. Így a jelöléstől vett első 50 napon belüli visszafogást kihagytuk az elemzésből.

2.3 Eredmények

2.3.1 Gyűrűzési aktivitás és adatfeltárás

Kevesebb adultat gyűrűztek költőládában, mint szabad templom toronyban (χ^2 teszt, $n_{KL}=582$, $n_{SzTT}=94$, elvárt=338, $\chi^2=202,53$; $df=1$; $p<0,01$) és a költőládában gyűrűzött madarak kisebb arányban kerültek visszafogásra (χ^2 teszt, $n_{SzTT_gyűrűzött}=582$, $n_{KL_gyűrűzött}=94$, $n_{SzTT_megkerült}=133$, $n_{KL_megkerült}=7$, $\chi^2=8,48$; $df=1$; $p<0,01$). Költőládában összesen kevesebb fiatal jelöltek a szabad templom tornyokhoz képest (χ^2 teszt, $n_{SzTT}=4059$, $n_{KL}=3395$, elvárt=3727, $\chi^2=29,63$; $df=1$; $p<0,01$), de a fiókakorban gyűrűzött madarak visszafogási arányaiban a költőhely szerint nem volt szignifikáns eltérés (χ^2 teszt; $n_{SzTT_gyűrűzött}=4059$, $n_{KL_gyűrűzött}=3395$, $n_{SzTT_megkerült}=176$, $n_{KL_megkerült}=121$, $\chi^2=2,66$; $df=1$; $p=0,10$).

2.3.2 A költőhely hatása

0-2171 napos periódus: A fiókaként jelölt madarak közül a költőládában gyűrűzöttek nagyobb arányban kerültek meg elhullva, mint a szabad templom toronyban jelölt egyedek (Fisher-féle exact teszt; $n=297$, $p=0,017$). Miután a testvér fiókákat összevontuk a pszeudoreplikáció elkerülésére, a szignifikáns különbség megmaradt (Fisher-féle exact teszt; $n=252$, $p=0,04$; 1. táblázat). Mindazonáltal a túlélési idő elemzéssel analizálva az adatokat a Log-Rank teszt nem mutatott szignifikáns különbséget a két csoport között a teljes vizsgálati időszakra nézve (Log-Rank teszt=1,22, $p=0,22$; 2. táblázat).

0-385 napos periódus: Az első életévre számolt összehasonlítások szignifikáns eltérést mutattak a költőhely szerint (Fisher-féle exact teszt; $n=191$, $p=0,04$; Log-Rank teszt=1,96, $p=0,049$).

50-385 napos periódus: A gyűrűzést követő első 50 napot kihagyva az elemzésből (ekkor a fiókák még a szülői gondoskodás alatt állnak, és a szabad templom toronyban ekkor nagyobb eséllyel lehet őket visszafogni), a Fisher-féle exact teszt nem tudott különbséget kimutatni az élve és halva megkerült egyedek aránya között ($n=156$, $p=0,12$). A kumulatív túlélési függvények összehasonlítása azonban szignifikáns különbséget jelzett a két csoport adott intervallumon belüli túlélési görbéi között. (Log-Rank teszt=-2,07, $p=0,038$). A

kumulatív túlélési görbéket az idő függvényében Kaplan-Meier módszer szerint ábráztuk (1. ábra). Az ábráról leolvasható, hogy a költőládában fejlődő fiókák várható túlélése alacsonyabb a szabad toronyban jelölt társaikéhoz képest, és ez a különbség a jelölést követő 100. nap körül a legmarkánsabb.

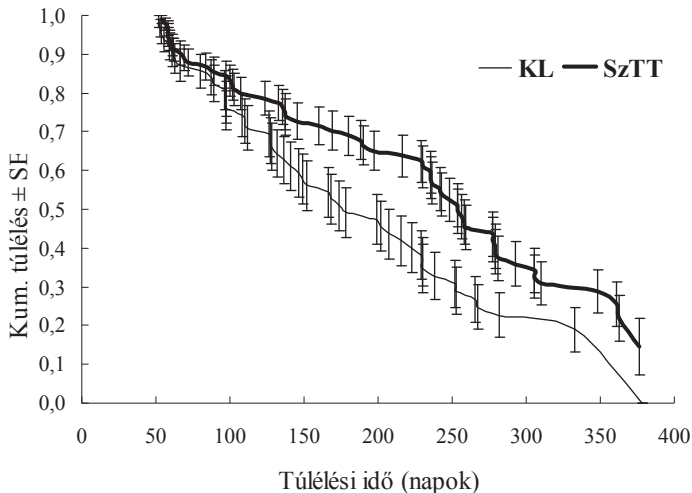
385-2171 napos periódus és 0-50 napos periódus: E két periódus egyikére sem kapunk semelyik statisztikai módszerrel szignifikáns eltérést (Fisher-féle exakt tesztek: $n=61$, $p=0,60$ illetve $n=36$, $p=0,29$; Log-Rank teszt= $1,25$, $p=0,21$ illetve Log-Rank teszt= $1,81$, $p=0,07$; 2. táblázat).

2. táblázat A nem parametrikus Fisher-féle Exact teszt és a túlélési idő elemzések (Log-rank teszt) eredményeinek összefoglalása. Az egyes időintervallumokat a gyöngybaglyok életmenet jellemzőitsem előtt tartva alakítottuk ki (részleteket ld. az anyag és módszer fejezetben). Félkövérrrel szedve $p<0,05$.

Intervallum	Költőláda		Szabad templom torony		n	Fisher teszt p	Log-rank teszt p
	Elhullva	Élve	Elhullva	Élve			
0-2171	75	29	88	60	252	0,045	0,224
0-385	56	19	70	46	191	0,044	0,049
50-385	47	16	58	35	156	0,121	0,038
385-2171	19	10	18	14	61	0,601	0,211
0-50	9	3	13	11	36	0,293	0,069

2.3.3 A kikelési idő hatása

Az 50-385 nap közötti időszakot megvizsgálva, a november elsejéig eltelt napok száma nem volt a regressziós modellben hatással a két csoport túlélési görbéje között kialakult különbségre, vagyis a kikeléstől a tél beálltaig eltelt idő nem befolyásolja a túlélést (Cox regressziós modell, $\chi^2=0,13$, $df=1$, $p=0,72$). Nem változott az eredmény akkor sem, ha a relatív költsékedzetet vittük be független változóként a modellbe (Cox regressziós modell, $\chi^2=0,68$, $df=1$, $p=0,41$).



1. ábra A Kaplan-Meier kumulatív túlélési függvények a túlélési idő elemzésből a gyűrűzést követő 50. naptól az első életévben. A költőládában (KL) kikelt fiókák túlélési esélye gyengébb, mint a szabad templom toronyban (SzTT) kikelt társaiké. A hibásávok az átlagok standard hibáját (S.E.) jelölik. A két túlélési függvény szignifikánsan eltér egymástól: Log-Rank teszt=-2,07, $p=0,038$.

2.4 Eredmények értékelése

A fiatal madarak elsőéves túlélése a szülői gondoskodást követő időszakban (50-385 napos intervallum) függ a költőhely minőségétől. Annak ellenére, hogy Európa szerte a költőládás védelmi eljárást tartják a leghatékonyabb gyöngybagolyvédelmi módszernek (Bunn *et al.* 1982; Shawyer 1987; Taylor 1994), a jelen eredmények figyelmeztetnek a lehetséges hátrányokra is. Mivel a költőládában fejlődő fiókák túlélési valószínűsége gyengébb, mint a szabad templomtoronyban fejlődő egyedeké, ezért talán nem túlzó a költőládák esetén az ökológiai csapda kifejezés használata. Schlaepfer *et al.* (2002) megfogalmazását követve ökológiai csapdáról beszélhetünk, ha egy hajdan megbízható viselkedési forma/stratégia követése az emberi civilizáció hatására hirtelen megváltozó környezeti feltételek között többé nem kapcsolódik össze adaptív kimenettel, és így csökken a túlélés vagy reprodukció sikerét eredményez. A gyöngybagoly obligát másodlagos odúköltő madárként odvakat, sziklahasadékokat, üregeket választott költőhelyül. Mivel a manapság mesterségesen kialakított költőhelyek többnyire igen magasra helyezkednek el (25-30 m

magasan a templomtoronyban), és a költőládák kialakításánál a természetvédők törekszenek figyelembe venni a baglyok igényeit (sötét, tágas, puha aljzat, száraz, huzatmentes stb.), ezért az ilyen költőhelyeket nagy arányban fogadják el a madarak. Adott esetben előfordul, hogy szívesebben fészkelnek egy ilyen jól védhető zárt ládában, mint a párhuzamosan, ugyanabban az épületben felkínált nyitott költősarkokban (saját megfigyelés).

A templomtoronyokba kihelyezett költőládák és a természetes üregek, vagy akár a szabadon bejárható templomtoronyok között is alapvető különbségeket tudunk felsorolni, amelyek a túlélésbeli különbség alakulásában szerepet játszhatnak:

- (1) A gyöngybagolyfiókák hasonlóan más bagolyfajokhoz bár fészeklakók, mégis jóval röpképességük elérése előtt elhagyják a fészket (Bruce 1999). Addig, amíg eléri a teljes kifejlettséget, a fészek környezetében fejlesztik koordinációs és röpképességüket. Ez a fejlődés szempontjából fontos időszak teljesen kimarad a költőládában fejlődő fiókák életéből, mivel ha röpképtelen állapotban elhagynák a költőládát, akkor 20-30 m-t zuhannának.
- (2) Az emberi zavarás sokkal kifejezettebb lehet a költőládákban. A gyűrűzések, ellenőrzések során a ládában kotló tojó, vagy a már mozgásképes de röpképtelen fiókák gyakran kiugranak, mielőtt az ellenőrző személy felérne a ládához. Ezzel ellentétben a tapasztalat azt mutatja, hogy a toronyban fejlődő családok sokszor meghúzódnak egy-egy sarokban. Mindezt az is alátámasztja, hogy költőládában az összes jelölt adult csupán 14%-át sikerült gyűrűzni 1995 és 2003 között. Ez a különbség még fontosabbá válhat, ha a kotlási időt tekintjük. Ekkor ugyanis a tojások, vagy az önálló termoregulációra még képtelen fiókák elhagyása azok pusztulásához vezethet. Mindez fokozottan igaz hűvös, esős időben (Cramp 1985, Toms 1998).
- (3) Mebs és Scherzinger (2000) vizsgálata említi, hogy az alacsony költőládákban történő kopuláció több steril tojást eredményez, mivel feltételezésük szerint a limitált tér nem engedi meg a természetes, hatékony kopulációs póz felvételét.
- (4) Végezetül számos tanulmány kimutatta, hogy a nem természetes denzitás, magasság, kinézet (Gowaty és Bridges 1991; Eadie *et al.* 1998, Mänd *et al.* 2005), vagy akár a költőládák kora (Vilka 2003) képes befolyásolni a populációdinamikát a megváltozott viselkedési, túlélési vagy reprodukciós mintázatok alapján (pl. fajon belüli fészekparazitizmus gyakoriságának megnövekedése, vagy interspecifikus infanticid ld. Mátics *et al.* 2008).

A két csoport túlélési görbéjében a jelölést követő 100 nap után erősödik fel a különbség (1. ábra). Ez az időszak általában már igen közel esik a tél kezdetéhez a kikelési dátumtól függően. A várttal ellentétben azonban a kikelési dátum vagy a kikeléstől a tél beálltaig (November 1-ig) eltelt idő és a túlélési görbék lefutása között nem találtunk összefüggést. Érdekesség, hogy Mátics (2003) szintén gyűrűzés-visszafogási adatokat elemezve nem talált különbséget a mozgási mintázatokban a korai és a késői kirepülők között. Mivel azonban a tél, és kifejezetten az első tél elsődleges a fiatal gyöngybaglyok túlélésében (Taylor 1994, Altwegg *et al.* 2003, Altwegg *et al.* 2006), ezért feltételezhető, hogy a jelen esetben talált különbségekben is alakító tényező lehet a téli időszak. Kísérletes megközelítésben nem tudtuk megvizsgálni a túlélést befolyásoló és költőhelyhez köthető lehetséges tényezőket. A növekedés, fejlődés, a parazitaterheltség, testvérek közötti agresszió és kompetíció vagy a költőhelyek mikroklimatikus viszonyai egyaránt szerepet játszhatnak a differenciális túlélésben.

Amennyiben a populáció jelentős hányada költőládában fészkel, úgy a ládával összefüggő csökkent túlélés befolyásolhatja az állomány dinamikáját, demográfiáját, vagy egy populációs összeomlást követő visszatérési sebességét. A gyöngybagolyról jelen ismereteink alapján azt gondoljuk, hogy a kontinentális klíma alatt elsenvedett magas téli mortalitást speciális életmenet stratégiájával kompenzálja. Ez az egyedi érdekből származó stratégia képeződik le populációs szinten is: úgy képes a populációméret a minimálisan életképes küszöb fölött maradni a nagy fluktuációk ellenére is, ha magas szaporodási ráta gyorsan képes visszapótolni a populáció elpusztult hányadát. Az adatokból kiderül, hogy a felderíthető múlttal rendelkező fiókák majdnem fele (45,5%-a) fejlődött költőládában. Ez az arány nem elhanyagolható az állomány populációdinamikáját tekintve, ha a fenti gondolatmenetet követjük. Hiába próbálja a gyöngybagoly magas utódszámmal biztosítani a következő évi megfelelő rekrua arányt, ha a költőhelyből fakadóan kevesebb utód éli meg a következő szaporodási szezont. Mindez enyhébb esetben azt vonja maga után, hogy a populáció visszatérési sebessége lelassul, drámaibb esetben több egymást követő kedvezőtlen időszak után nem lesz képes az állomány pozitív szaporodási rátát produkálni.

A költőládák természetvédelmi szempontú értékeléséhez hozzátartozik, hogy azon túl, hogy ökológiai csapdaként funkcionálhatnak, felerősíthetik az interspecifikus kompetíciót. Baranya megyei költőládás állományon sikerült kimutatni, hogy a költőládákért versengés folyik a macskabagoly és a gyöngybagoly között (Mátics *et al.* 2008). A macskabagoly, mint korai költő, már februárban elfoglalja a megfelelő, templomtornyokba kihelyezett költőládákat, amelyekben számos esetben koponyasérüléstől elpusztult macskabagoly

fiókákat, majd azt követően gyöngybagoly költést lehetett találni. Úgy tűnik tehát, hogy a vonzó, alkalmas költőládák egyrészt limitáltak, másrészt megéri a gyöngybagolyoknak felvállalni a macskabaglyokkal történő összetűzés kockázatát egy vonzónak tűnő költőhely érdekében. Vizsgálatra érdemes kérdés az egyedek minősége és a költőhelyfoglalás közötti kapcsolat. Roulin és kutatócsoportja által a svájci populációra kidolgozott minőségjelző bélyegek magyar populáción történő validálása folyamatban van (ld. kitekintés, 67. oldal), és elképzelhető, hogy nálunk is érvényesek az ott leírtak; pöttyösebb tojó + vörösebb hím alkotják a sikeres párt (Roulin *et al.* 2000a, 2000b, 2001a, 2001b). Ha elfogadjuk, hogy vannak jobb minőségű egyedek (vörösebb színű hímek), amelyek előbb kezdenek költőhelyet keresni, párt találni, és hogy a jobb minőségű hímek a jobb minőségű (pettyesebb) tojókkal alkotnak párt (Roulin *et al.* 1999), feltehetjük, hogy a jó minőségű egyedek a vonzónak látszó költőládákat foglalják el nagy arányban. A vonzó, ám valójában hátrányos költőládaiban történő költésnek két következménye lehet: 1) a jobb minőségű szülők jó minőségű utódai képesek kompenzálni genetikai minőségükkal, rátermettségükkel a költőhelyből származó hátrányokat, és nem szenvednek csökkent túlélést emiatt. 2) a jobb minőségű egyedek utódai nagyobb arányban pusztulnak el az első télen a szülők költőhelyválasztása miatt (kontraszelekció, ökológiai csapda). Az első esetet nem támogatják az eredményeink, hiszen ha többségében a jó minőségű párok választanak a költőládákat, és a jó utódok kivédenek a káros hatásokat, akkor nem látszana különbség a túlélési görbékben. A második hipotézist nem tudjuk sem megerősíteni, sem cáfolni, mivel az egyedek minőségére vonatkozó hazai vizsgálatok nem állnak rendelkezésre.

Az eredmények alátámasztják mindazok igazát, akik a fajvédelmi tervek tudományos megalapozottságát és a folyamatos felülvizsgálatot fontosnak tartják. Számos globálisan is veszélyeztetett fajnál (nagytestű sasok, sólymok, baglyok, szalakóták, papagájok és ritka énekesek) a fajvédelmi kezelési tervek kulcsfontosságú pontja a költőhely biztosítása. Hazai példa is ismert, amikor a mesterséges költőhelyek biztosítása nagyban hozzájárult egy populáció megerősödéséhez. Az elmúlt 25 évben a globálisan veszélyeztetett kerecsensólyom (*Falco cherrug*) populációja 8-ról 120 költőpárra emelkedett, és manapság a költőpárok 95%-a mesterséges fészkekben költ (Bagyura *et al.* 2002).

Ugyanakkor kevés olyan tanulmány ismert, amelyek vagy új módszerek tesztelését, vagy már meglévők tudományos igényű értékelését tűzték ki célul (héjasas *Hieraetus fasciatus*, Gil-Sánchez *et al.* 2004; vörösbegyű kékmadar *Sialia sialis*, Gowaty és Bridges 1991; Szumba szigeteki papagájok és endemikus szarvascsőrű madarak, Marsden és Jones 1997; endemikus ausztráliai papagájok, Pell és Tidemann 1997). E tanulmányok segítségével

kaphatunk visszajelzést arról, hogy az alkalmazott védelmi módszer megfelelő-e, vagy valamilyen változtatásra szorul.

A költőládás gyöngybagolyvédelmi módszer kiváltására alkalmas alternatív védelmi lehetőségek bemutatása nem képezi e dolgozat tárgyát. Azonban nem lenne teljes a kép, ha elmaradna az utalás az alkalmazott természetvédelmi biológiai vonatkozásokra. A hazai gyöngybagoly-populáció költőhelyvédelmével foglalkozó, és az itteni eredményekhez szorosan kapcsolódó anyagok: Nagy 1998a, Nagy 2001, Klein 2003, Klein *et al.* 2003, Klein *et al.* 2007, www.gyongybagoly.hu.

3. Fiziológiai kapcsolatok

3.1 Bevezetés

A hőmérsékleti adaptációban a hormonális szabályozás kulcsfontosságú résztvevő, kiemelve a pajzsmirigy hormonok (PH) homoterm élőlényeknél betöltött szerepét (Burger és Denver 2002). A madarak pajzsmirigy hormonjai részt vesznek az alapanyagcsere ráta és az állandó testhőmérséklet szabályozásában, illetve kulcsszerepet játszanak a növekedés és fejlődés folyamataiban (McNabb *et al.* 1998, Decuypere *et al.* 2005). A legtöbb madarakon végzett PH vizsgálat vagy termoregulációval kapcsolatos (Olson *et al.* 1999, Moraes *et al.* 2003, Moraes *et al.* 2004), vagy azt vizsgálja, hogyan befolyásolják a káros hormonhatású vegyszerek (endocrine disruptors) a pajzsmirigy által is szabályozott egyedfejlődési és viselkedési folyamatokat (Ottinger *et al.* 2001, Zala és Penn 2004). Ugyanakkor viszonylag kevés ismeret áll rendelkezésre a pajzsmirigyhormonok különféle életmenet-komponensekben betöltött fiziológiás hatásairól madaraknál, úgy mint a növekedés, fejlődés, vagy éppen a szaporodás. Kivételt képez e téren a fészeklakó-fészekahagyó fiókafejlődési módok ilyen szempontú vizsgálata (McNabb *et al.* 1998, Olson *et al.* 1999). McNabb (2006) összefoglaló cikkében leszögezi, hogy az egyik legnyilvánvalóbb hiátus a madarak PH vizsgálatában a kevés számú taxon bevonásából ered. Korábbi tanulmányok elsősorban gazdasági haszonmadarakat és nagy mintaszámban könnyen tanulmányozható vadonélő fajokat használtak, mint amilyen a seregély (*Sturnus vulgaris*, Dawson *et al.*, 1985), örvös galamb (*Columba palumbus*, McNichols és McNabb 1988), kék cinege (*Parus caeruleus*, Silverin és Rudas, 1996), piros vállú csirőge (*Agelaius phoeniceus*, Olson *et al.*, 1999), sarki partfutó (*Calidris canutus*, Jenni-Eiermann *et al.*, 2002), házi veréb (*Passer domesticus*, Chastel *et al.*, 2003); vagy koronás verébsármány (*Zonotrichia leucophrys*, Scollon *et al.*, 2004). A vizsgált madárfajok, de méginkább a családok és rendek alacsony száma gát lehet a PH-ok

egyedfejlődésben és életmenet evolúcióban betöltött szerepének megértése előtt. Dufty *et al.* (2002) munkájában rávilágított az evolúciós folyamatok (pl. fenotipikus plaszticitás és adaptáció) és a környezet-hormon-genom interakciók vizsgálatának fontosságára. Számos példát sorakoztat fel arra, hogy a hormonális tényezők kihagyása hibás evolúciós magyarázatok megalkotásához vezethet. Az egyik ilyen példa bemutatja, hogy a struccoknál (*Strutio chamelus*) tapasztalható, az általános madárképtől eltérő „abnormális” pajzsmirigy mintázatok magyarázhatják a struccok számos neoténias tulajdonságát (Dawson *et al.* 1996). A PH-ok taxon-specifikus mintázatának feltárása és a hőmérsékleti adaptációban betöltött szerepe számos szempontból lényeges lehet:

(1) Evolúciós megközelítés: A PH-ok mind a hőmérséklet szabályozásában (Decuyper *et al.* 2005), mind a hőmérsékleti adaptációban jelentős szerepet kapnak (Collin *et al.* 2005). A környezetitől független állandó magas testhőmérséklet fenntartása a madaraknál és emlősöknél jelentős evolúciós áttörést eredményezett, amely lehetővé tette a kedvezőtlen hőmérsékletű területek kolonizálását is. Emiatt a különböző taxonómiai szinteken elvégzett összehasonlító evolúciós vizsgálatok a pajzsmirigy funkciókban újabb ökológiai mintázatokra és egyedfejlődési sajátosságokra adhatnak magyarázatot (Dufty *et al.* 2002). Például a PH vizsgálatok tették lehetővé a tojásból való kikelést követő életmenet sajátosságok közötti különbségek magyarázatát. Nevezetesen a fészeklakó és fészekhagyó fiókafejlődési módok szabályozásában és ezzel együtt az önálló termoreguláció kialakulásában kardinális szerepet játszanak a PH-ok (Silverin és Rudas 1996, Olson *et al.* 1999).

(2) Természetvédelmi megközelítés: A globális klímaváltozás hatása a hormonrendszerre és ezen keresztül az egyedfejlődési és szaporodási sajátosságokra egyike a kurrens vizsgálati témáknak (pl. tőkehal *Gadus morhua*, Cyr *et al.* 1998). Egy másik, szintén humán eredetű hatás a csúcsragadozók táplálék-elérhetőségének minőségi és/vagy mennyiségi megzavarása. A táplálkozási stressz ugyanis megváltoztatja az anyagcsere rátát és beleszólhat a téli túlélésbe is a csökkent tartalék-felhalmozáson keresztül a mérsékeltövi klímán, ami végső soron a populációdinamika megváltozását, populációs összeomlást eredményezhet (kardinális pinty *Cardinalis cardinalis*, Burger és Denver 2002; borjúfőka *Phoca vitulina*, Oki és Atkinson 2004). Végül lényeges természetvédelmi kérdéskör a hormonhatású környezeti szennyezők hatása az endokrin rendszerre. A környezetbe jutó gyógyszermaradványok és mezőgazdasági szerek évtizedek óta fennálló és meg nem oldott problémát jelentenek (Bowerman *et al.* 2000, Scollon *et al.* 2004).

(3) Gazdasági megközelítés: A harmadik, említésre méltó pajzsmirigyhormon vizsgálati irány elsősorban arra irányul, hogy embrionális vagy fiókakori hőmérsékleti

kondicionálással hogyan változtatható meg baromfifajták hőmérsékleti toleranciája (Moraes *et al.* 2003). Ez nem csupán a trópusokon történő baromfítenyésztés gazdasági érdekei miatt, de a termoadaptáció evolúciós megértése szempontjából is fontos kutatási ág.

A baglyok, ezen belül a gyöngybagoly faj számos vonatkozásában eltér a fentiekben említett madárfajoktól. (1) Elsősorban táplálkozásökológiai különbség, hogy a baglyok obligát húsevők. Miután a táplálkozási karakterek befolyásolhatják a PH-reguláció útvonalait (Malheiros *et al.* 2003), nem lehetetlen, hogy a ragadozók és magevő madarak között eltérés van a szignalizációs útvonalban. (2) További anyagcsere sajátosság, hogy e faj nem képes annyi zsírt raktározni, mint más hasonló méretű európai bagolyfajok a Strigidae családból. (Piechocki 1960, Glutz von Blotzheim és Bauer 1980, Handrich *et al.* 1993a). (3) A gyöngybagolyfiókák erősen aszinkron kelésűek, és fészeklakók. (4) A gyöngybagoly a kontinentális Európa területén kifejezetten éjszakai aktivitású ragadozó. (5) Továbbá, mivel a gyöngybagoly a mezőgazdasági területek csúcsragadozója, erősen kitett a hormonhatású vegyszerek káros hatásainak. A rágcslóirtók és mezőgazdasági permetszerek (szerves klór vegyületek, nehézfémek) akkumulálódhatnak szervezetükben, hátrányosan befolyásolva az érzékeny hormonális szabályozó rendszert (Gandolfi *et al.* 2002).

Mivel a baglyok PH sajátosságairól ezidáig nem jelent meg tanulmány, alapvető célul tűztük ki, hogy a fenti evolúciós, termoregulációs és természetvédelmi kérdések megközelítését lehetővé tevő alapvizsgálatokat elvégezzük.

(1) Egyfelől szükséges leírni a korcsoportok és ivarok szerinti alap és serkentett pajzsmirigyhormonok jellemzőit vadon élő populációt mintázva.

(2) Ezt követően megvizsgáltuk, hogy manipulált környezeti hőmérséklet hatására történik-e változás a PH-ok vérben kimutatható szintjében fogságban tartott egyedeknél.

(1) A gyöngybagolyok korcsoport szerinti vizsgálatánál kiindulási pont volt a fiókák sajátosságos fejlődése. Alfajoktól függően a fiókák 40-55 nap közötti időszaka meghatározó határvonal mind fiziológiai, mind életmenet sajátásaik tekintetében. Eddig a korig ugyanis gyors ütemben gyarapszik a testtömegük, meghaladva a felnőttkori „röpképes” testtömeget, majd egy rövid plató fázist követően spontán csökken a táplálékbevitel mértéke, és a testtömeg lecsökken az adultakra jellemző értékre (Wilson *et al.* 1987, Durant és Handrich 1998). Ez a változás érinti a lipidanyagcserét (zsírraktárak) és a szervezet vízháztartását is (Durant *et al.* 2008). Ugyanakkor jelentős változás az is, hogy 40-50 naponan hagyják el először a fiókák a fészket, és kezdenek hozzá a függetlenné válás hosszadalmas folyamatához.

A magyarországi gyöngybagolyfiókák átlagosan 51 napos korban érik el maximális testtömegüket, és ez az idő az, amely első önálló kirepülésüket is jelenti (Klein *et al.* 2007). Legalább egy fiziológiai és egy életmenet változás alakul ki tehát ebben a korban, és mindkét folyamatot befolyásolhatja a PH háztartás.

(2) A PH-ok hőmérsékleti tolerancia vizsgálata során a gyöngybaglyok számára termoneutrálisnak vélt hőmérsékleti tartomány alatt vizsgáltuk a PH-ok szintjét. E termoneutrális környezeti hőmérséklet Handrich *et al.* (1993a) alapján 25-33 °C. Az alapvető kérdés az volt, hogy kimutatható-e egyáltalán bármiféle különbség a PH szintekben a különböző hőmérsékleten tartott egyedeknél, vagyis valóban részt vesz-e a lényegesnek tartott pajzsmirigy a hőháztartás és alapanyagcsere környezetfüggő szabályozásában.

Mindkét kérdéskört thyrotropin-releasing hormon (TRH) stimulációs teszt segítségével vizsgáltuk: kísérleteinkben mértük a plazma trijód-tironin (T3) és tiroxin (T4) szintjét a TRH kezelés előtt és egy órával utána. A TRH stimulációs teszt segítségével értékes információk nyerhetők a madarak PH szabályozásáról, válaszadási kapacitásukról. A TRH kezelés mechanizmusát vázlatosan Kühn *et al.* 2005 összefoglaló cikke alapján ismertetem (ld. még 9.2 melléklet). Emlősöknél TRH injektálással elsősorban csak a centrális PH szabályozó rendszer vizsgálható, mivel a TRH hatására megnő a hipotalamikus TSH elválasztás, amely a pajzsmirigy hormonszekrécióját serkenti. Emlősöknél tehát elsősorban a biológiai inaktív T4 szint emelhető meg TRH kezelés hatására. Madaraknál azonban a TRH erős szomatotrop hatással is bír az által, hogy a TRH serkentett GH (növekedési hormon, growth hormone) elválasztás hatására a perifériás PH anyagcsere is felgyorsul. Ez utóbbiban a deiodáz enzimek (D1, D2 és D3) vesznek részt vagy aktivációs, vagy gátló módon. E tekintetben a fiatal, még növekedésben lévő madarak és az adultak között lényeges különbség van (házi tyúk). Fiatal madarakban TRH szint növekedés hatására a TSH és GH szint is nő. A TSH emeli a T4 szintet, a magas GH szint azonban a III-típusú deiodáz (D3) szintjét csökkenti, lassítva ezáltal a T3→T2 konverzió sebességét. Ennek hatására megemelkedik a plazma T3 szintje is. Adult madaraknál a hipofízisben lévő tireotrop sejtek TRH kötő felszíne lecsökken a fiatal madarakhoz képest, amely csökkent TSH szintézishez vezet. Így adultaknál a TRH hatására vagy nem változik, vagy még csökken is a T4 plazma szint, míg a T3 szint a fiatalokhoz hasonlóan megnő (3. táblázat).

3. táblázat Korspecifikus hormonválasz csirkében TRH kezelés hatására. Adultaknál a TRH stimultált TSH válasz elmarad a fiatal állatokhoz képest, amely a T4 plazmaszintben vagy semmilyen, vagy negatív irányú változást indít el (Kühn *et al.* 2005 alapján).

		Hipofízis	Periféria	Plazma
Fiatal	TRH	TSH ↑↑↑		T4 ↑
		GH ↑↑↑	D3 ↓	T3 ↑
-----		TSH ↑		T4 -/↓
Adult		GH ↑↑↑	D3 ↓	T3 ↑

3.2 Anyag és módszer

Adatgyűjtés: A vadon élő populáció vérmintáit Baranya, Tolna és Somogy megyék területéről gyűjtöttük (47°02'N, 17°33'E; 45°50'N, 18°29'E). A vérmintákat engedéllyel, a madarak fészkelő helyeinél gyűjtöttük össze (templomtornyok) 2004 és 2005-ben a júniustól augusztus végéig terjedő költési időszakban. A baglyokat kézzel fogtuk meg az épületeken belül. A kotló tojókat vagy tojásos fészekaljkat természetvédelmi megfontolásból nem mintáztuk. Szintén kihagytuk a mintavételből a 15 napnál fiatalabb fiókákat, amelyek még nem rendelkeznek önálló termoregulációval (Durant 2002), és igen sérülékenyek. A fiókák korát a tojásrakás dátumából számoltuk ki. A mintavételkor a fiókákat két csoportba soroltuk: 51 napnál fiatalabb és 51 napnál idősebb fiókák (magyarázatot ld. az 1.3 fejezetben). Összesen 145 egyedről (22 felnőtt és 123 fióka) sikerült a két évben mintát gyűjteni.

A környezeti hőmérsékletváltozásra adott PH reakció vizsgálatához sérült, fogságban tartott példányokat használtunk fel. A kevés hím egyed miatt csak tojókat vontunk be a kísérletbe. Ezek az egyedek hosszú idővel a vizsgálat előtt (2001 és 2004 között) szenvedtek maradandó sérülést, pl. végtagtörés, csonkolás, áramütés stb. Ezek a sérülések feltételezésünk szerint nem befolyásolják a PH funkciókat, és természetvédelmi szempontból is támogatott ezen madarak ilyen irányú tudományos hasznosítása, szemben az egészséges vadon élő egyedek befogásával. A tojók egy közös kültéri röpdében voltak elhelyezve a kísérletet megelőzően, természetes fény- és hőmérsékleti viszonyok között. Laboratóriumi egeret és naposcsibét kaptak *ad libitum*, és korábbi sérüléseiket leszámítva jó kondícióban voltak.

Kísérleti elrendezés. TRH stimulációs teszt: Mind a vadon élő, mind a fogságban tartott egyedek PH vizsgálatánál TRH stimulációs kezelést alkalmaztunk. Ennek lényege, hogy a madár első befogásakor történt vérmintavételt követően rögtön 20 µg TRH (thyrotropin

releasing hormone acetate: P 2161; Sigma-Aldrich Corporation, St. Louis USA) hormont adunk be i.v., majd a beadást követő 60. percben másodszor is veszünk vért az állattól Bartha *et al.* (1989) munkáját követve. A vérmintákat (500-800 µl/egyed) a szárnyvénából vettük 25- G előre heparinizált steril tűvel. A mintákat a helyszínen azonnal lecentrifugáltuk, és a vérplazmát -20°C -on tároltuk a hormonszint mérésig. A megmaradt sejtes frakciót abszolút etanolban tárueltuk a későbbi DNS extrakcióig. Az első vérvételből származó mintákat alap tiroxin (T4-t0) és trijód-tironin (T3-t0), illetve a TRH injekciót követő 60. percben vett mintákat serkentett tiroxin (T4-t60) és trijód-tironin (T3-t60) jelöléssel különböztettük meg. A vad populáción végzett vizsgálatoknál az egyedeket a kísérlet egy órája alatt egy puha sötét vázonszámban külön-külön tartottuk.

A fogságban tartott egyedekkel végzett hőmérsékleti vizsgálat elrendezése a következő volt: 2005 márciusa, vagyis a költési időszak beállta előtt az egyedileg jelölt tojók testtömegét lemértük, és egyedi deszka költőládákba (0,7 x 0,5 x 0,8 m) helyeztük őket. Ezek a ládák hasonlóak voltak azokhoz, amelyeket a röpdében korábban maguk használtak költésre vagy búvóhelyként. A 11 ládában lévő madarat két random csoportra osztva (5-6 egyed) két sötét helyiségbe helyeztük, ahol a természetes 12L:12D fényciklust biztosítottuk számukra 15W-os égőkkel. A baglyok *ad libitum* táplálkozhattak laboratóriumi egerekkel.

A két helyiség hőmérsékletét tekintve eltért, amelyet digitális minimum-maximum hőmérők segítségével folyamatosan rögzítettünk. A hideg szoba: T_{max}=10.0 ± 2.3 °C, T_{min}=4.5 ± 1.6 °C, N=16; meleg (fűtött) szoba: T_{max}=22.0 ± 0.8 °C, T_{min}=17.3 ± 0.5 °C, N=19. A kísérlet 8 napig tartott: két napos akklimatizálódást követően az első csoport bekerült a hideg, a második csoport a meleg helyiségbe. Ezt követő 3 nap múlva megtörtént a súlymérés és a TRH stimulációs teszt. A két csoportot megcseréltük, majd 3 nap múlva – a 8. napon – elvégeztük a második TRH kezeléssel egybekötött vérvételt. A 8. napot követően a madarak visszakérültek eredeti kültéri röpdéjükbe.

Laboratóriumi módszertan: Az egyedek ivara a CHD-W és CHD-Z lókusok PCR amplifikációjával került meghatározásra, amelyhez a P2/P8 primereket választottuk (Griffith *et al.* 1998). A PCR programot Rosivall *et al.* (2004) alapján állítottuk be. A tojó-specifikus CHD-W, és a mindkét ivarnál meglévő CHD-Z PCR termékeket 2%-os agaróz gélen etidium-bromid festéssel tettük láthatóvá (9.3 melléklet 21. ábra). A hímek egy (CHD-Z), a tojók két elkülönülő sávot (CHD-W, CHD-Z) mutattak. A minták 30%-át random kiválasztva megismételtük a PCR amplifikációt, de nem tapasztaltunk hibát (pl. nem amplifikálódott sáv).

A PH-ok meghatározása a 125-ös jódtó radio-immun assay eljárásán alapult (125I-RIA). A T4 mérésére kifejlesztett kitet (125I-T4 CT-spec. RIA, Izotóp Intézet,

Budapest) eredetileg humán felhasználásra dolgozták ki, de az állati alkalmazásnál fellépő kisebb koncentrációkra történő optimalizálás megtörtént (Huszenicza *et al.* 2000). A humán T3 kit (125I-T3 CT RIA, Izotóp Intézet, Budapest) a korábbi vizsgálatok alapján megfelelt az állatoknál jellemző méréstartománynak, így módosítás nélkül alkalmazható volt (Huszenicza *et al.* 2000). Mivel a gyöngybaglyoktól kevesebb mint 1 ml vért lehet csak a madarak veszélyeztetése nélkül levenni, ezért parallel mérésre mintánként nem volt minden esetben lehetőség.

Mind a T4, mind a T3 hormonok mérése során mértük az assay-n belüli és assay-k közötti variációs koefficiienst (intra és inter assay CV%), valamint a mérés érzékenységét (nmol/l-ben) (4. táblázat). A hígítási sorba vitt gyöngybagoly vérplazma hormonszintje párhuzamos volt a standardokból számított görbével. A gyöngybagolyplazmához adott ismert mennyiségű T4 illetve T3 hormonok visszanyerése 96 és 105 % között változott.

4. táblázat T4 és T3 hormon assay-n belüli (intra assay CV%), assay-k közötti (inter assay CV%) variációs koefficiensei, a mérés érzékenysége (nmol/l-ben).

	T4			T3		
	Inter assay CV (%)	Intra assay CV (%)	Érzékenység (nmol/l)	Inter assay CV (%)	Intra assay CV (%)	Érzékenység (nmol/l)
Vad populáción végzett assay-k	6,85-12,15	0,98-12,30	3,31	7,06	10,13	0,10
Fogságban tartott egyedeken végzett assay-k	4,2-17,2	1,0-9,0	3,8	1,6	25,3	0,67

Statisztikai elemzés: Mind a T4, mind a T3 alapadatok \log_{10} transzformáláson estek át, hogy az eloszlásuk jobban közelítsék a normál eloszlást. A vad populációból származó T4 adatok csak 2004-ből, míg a T3 adatok 2004-2005 évekből valók. Mivel az adatok között nagy számban szerepelnek testvérek, ezért az elemzések többségét SAS 8.0 statisztikai program mixed model funkciójával végeztük (SAS, Mixed model, CovTest), ahol az év és a fészekalj random faktorok voltak. Így biztosítható volt, hogy a genetikai értelemben nem független adatpontok random faktorra korrigálva szerepeljenek az elemzésekben. A TRH lehetséges stimuláló hatását ismételt variancia analízis elrendezéssel (repeated measure ANOVA) elemeztük. Egyazon állattól vett ismételt mintázást a 0. és a TRH beadást követő 60. percben vett minta hormonszintje jelentette (T4-t0 - T4-t60 és T3-t0 - T3-t60). Amikor nem volt szükség mixed model alkalmazására (pl. nem rokon adultak összevetése egy éven

belül), akkor a Statistica program Generalized Linear Model (GLM) csomagját, vagy Student t-test-et alkalmaztunk.

A model szelekciót a nem szignifikáns változók és interakciók „step-wise backward deletion” módszerével végeztük. A kiindulási modellből elsőként a nem szignifikáns interakció(ka)t, majd ezt követően a nem szignifikáns egyedi változó(ka)t ejtettem ki (feltéve, hogy ezek nem voltak részei egy szignifikáns interakciónak), szignifikanciájuk csökkenő sorrendjének megfelelően. Ha mindeközben egy nem szignifikáns egyedi változó törlésekor egy addig szignifikáns interakció nem szignifikánssá vált, akkor azt töröltem legközelebb, s nem a soron következő nem szignifikáns egyedi változót. A nem szignifikáns elemeknek a modellben szereplő statisztikai értékeit a végső modellbe egyenként történő visszahelyezésük alapján kaptam meg (interakciók esetén azok esetlegesen kiszedett alkotóit is visszatéve), illetve a szignifikáns interakciók nem szignifikáns alkotóit nem vettem ki, így azok nem szignifikáns minvtuk ellenére is a végső modell részeivé váltak.

A hőmérsékleti vizsgálatoknál a testtömeg változást (a kiindulási testtömeg százalékában kifejezve) kovariánsként vittük be a modellekbe, a hőmérséklet (meleg, hideg) kategóriaváltozóként szerepelt. A szignifikanciát minden esetben $p < 0,05$ értéknél állapítottuk meg.

3.3 Eredmények

3.3.1 Pajzsmirigy hormonok mintázatának leírása

Az alap T4 és T3 szintek a kor és ivar függvényében: A plazmából mért hormon tartomány T4 esetén 15,72-95,47 nmol/l, T3 esetén 0,62-5,09 nmol/l volt (5. táblázat). A kornak szignifikáns hatása volt a plazma T4 koncentrációjára, mivel az 51 napnál fiatalabb fiókák T4 szintje volt a legmagasabb, a felnőtteké a legalacsonyabb (Mixed model, Kor $F_{[2; 74,1]}=5,6$, $p=0,0054$; 2. ábra). A post-hoc teszt kimutatta, hogy a felnőtt madarak és az 51 napnál fiatalabb fiókák csoportjai közötti különbség volt a szignifikáns (Tukey-Kramer post-hoc teszt, Felnőtt vs. <51nap $df=51,7$, $t=-3,31$, $p=0,004$). Az ivar nem befolyásolta a plazmában mérhető T4 szintet (Mixed model, ivar $F_{[1;1,3]}=0,06$, $p=0,804$). Az adult madarakat külön vizsgálva azonban a hímeknek szignifikánsan magasabb volt az alap T4 szintje, mint az ivarérett tojóknak ($df=14$, $t=2,66$, $p=0,018$; 2. ábra). Sem a kornak, sem az ivarnak nem lehetett statisztikailag szignifikáns hatást tulajdonítani T3 esetén (Mixed model, kor $F_{[2; 83,9]}=0,44$, $p=0,643$; ivar $F_{[1; 96,6]}=1,23$, $p=0,271$). A T4-hez hasonlóan ugyanakkor, az adult

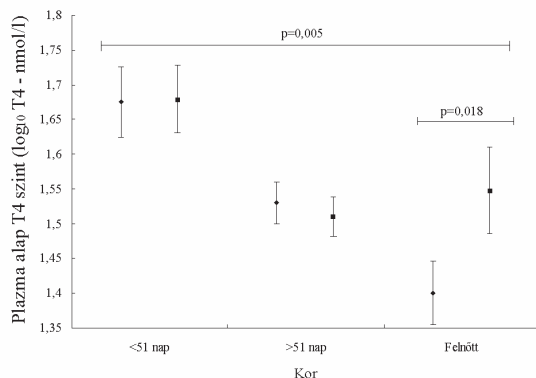
hímek plazma T3 szintje tendenciáját tekintve magasabb volt, mint a tojóké, de ez a különbség statisztikailag nem bizonyítható ($df=12$, $t=1,42$, $p=0,18$; 3. ábra).

5. táblázat Az alap tiroxin (T4) és trijód-tironin (T3) plazmából mért koncentrációi (nmol/l) ivar és korkategória szerinti bontásban gyöngybagolynál. A p az egyes csoportok közötti statisztikai próbák szignifikancia szintje. (n=egyedszám, SE=standard hiba, N.S.= nem szignifikáns eredmény)

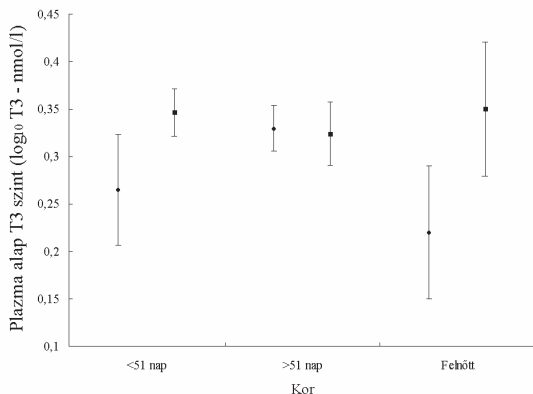
		Plazma T4 (nmol/l)			p			
Kor	Ivar	n	Átlag ± SE	Tartomány	kor	ivar	kor	ivar
Adult	♂	8	34,75 ± 3,74	21,84 - 48,07	0,0054	N.S.	0,004	0,018
	♀	8	23,63 ± 1,64	17,26 - 31,85				
Fióka <51 nap	♂	16	50,75 ± 5,46	24,21 - 95,47				
	♀	9	48,29 ± 5,73	24,38 - 83,11				
Fióka ≥51 nap	♂	20	36,39 ± 2,27	19,87 - 61,12				
	♀	21	39,52 ± 3,52	15,72 - 79,40				
		Plazma T3 (nmol/l)						
Adult	♂	8	2,39 ± 0,40	1,59 - 4,46	N.S.	N.S.		N.S
	♀	6	1,69 ± 0,22	0,75 - 2,37				
Fióka <51 nap	♂	19	2,26 ± 0,14	1,34 - 3,58				
	♀	14	2,03 ± 0,24	0,81 - 3,99				
Fióka ≥51 nap	♂	30	2,27 ± 0,16	0,62 - 5,09				
	♀	32	2,22 ± 0,10	0,89 - 3,21				

A TRH hatása a plazma T4 és T3 szintjére: Sem a TRH, sem az ivar nem volt hatással a plazma T4 szintjére a TRH injekciót követően, azonban a kornak szignifikáns hatása volt a T4 elválasztásra nézve (Mixed model, TRH $F_{[1, 77,6]}=0,64$, $p=0,43$; Ivar $F_{[1, 57,2]}=0,05$, $p=0,82$; Kor $F_{[2, 66,8]}=5,08$, $p=0,009$). A TRH kezelés csak adult tojóknál eredményezte a T4 szint szignifikáns emelkedését (GLM, adult madarak, TRH kezelés $df=1$, $F=15,45$, $p=0,002$, TRH kezelés x ivar $df=1$, $F=13,03$, $p=0,004$; 4. ábra). Fiataloknál mindkét ivarban és az adult hímeken is hatástalan volt (4. ábra)

A TRH kezelés ugyanakkor a T3 szintet szignifikánsan emelte mindkét ivarnál és minden korosztálynál (5. ábra), a T3 mintázatra a kor szignifikáns hatással volt (Mixed model, TRH kezelés $F_{[1, 102]}= 140,45$, $p<0,0001$, kor $F_{[2, 88,6]}= 3,31$, $p= 0,041$; ivar $F_{[1, 90,3]}=0,27$, $p=0,60$; 5. ábra). Az adult példányoknál külön elemezve az ivarnak nem volt szignifikáns hatása a TRH stimulált T3 szintváltozásra (GLM, TRH kezelés $df=1$, $F=14,22$, $p=0,006$, Sex $df=1$, $F=1,86$, $p=0,21$).



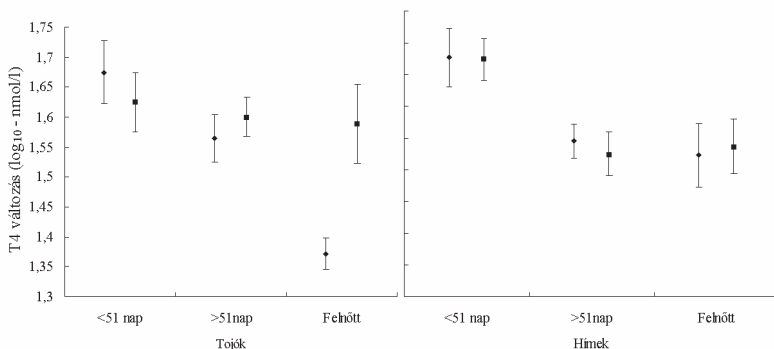
2. ábra Az alap plazma T4 szint a kor és ivar szerinti bontásban. A kor szignifikáns hatással volt a T4 mintázatra ($p=0,005$). Az ivar csak az adult példányok esetén okozott szignifikáns különbséget a hímek magasabb T4 alapszintje miatt ($p=0,018$). Az oszlopok átlagot \pm SE képviselnek a \log_{10} transzformált T4 koncentrációadatokról számolva (◆ T4-t0 tojók, ■ T4-t0 hímek).



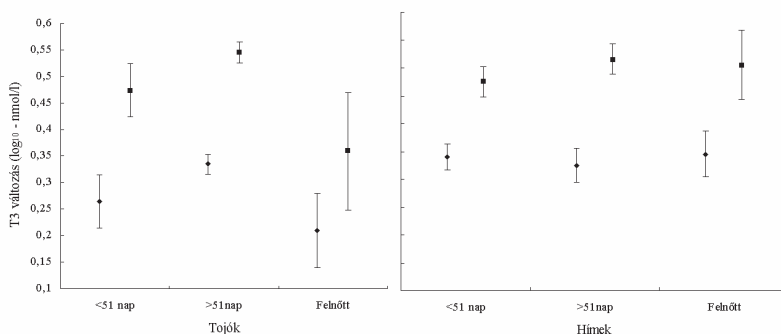
3. ábra Az alap plazma T3 szint a kor és ivar szerinti bontásban. Sem a kor, sem az ivar nincs szignifikáns hatással a T3 alapszintre. Az oszlopok átlagot \pm SE képviselnek a \log_{10} transzformált T3 koncentrációadatokról számolva (◆ T3-t0 tojók, ■ T3-t0 hímek).

Az alap PH szintek és a TRH kezelésre adott válasz mértéke közötti kapcsolat: A T4 plazmaszintben a TRH hatására bekövetkező változás erős negatív kapcsolatban áll a kiindulási alap T4 szinttel (T4-t0) (Mixed model, T4-t0 $F_{[1, 74,9]} = 57,13$, $p < 0,0001$). Ez annyit tesz, hogy minél magasabb a T4-t0 annál kisebb mértékben képes emelkedni a TRH hatására

a T4-t60. A T3-al kapcsolatban ugyanez a fordított összefüggés mutatható ki, azzal a kiegészítéssel, hogy erre a negatív korrelációra hatással van a kor is a kor * T3-t0 interakción keresztül (Mixed model, T3-t0 $F_{[1,74,8]}=18,62$, $p<0,0001$; kor $F_{[2, 79,1]}= 8,17$, $p<0,001$; kor x T3-t0 $F_{[2, 80,4]}= 7,76$, $p<0,001$).



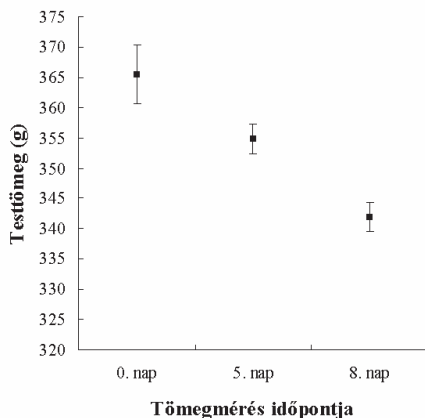
4. ábra TRH kezelés hatása a plazma T4 szintváltozására kor és ivar szerinti bontásban. Szignifikáns változás csak adult tojók esetén fordult elő ($p=0,004$). Az oszlopok átlagot \pm SE képviselnek a log₁₀ transzformált T4 koncentrációadatokról számolva a TRH kezelés előtt (◆ T4-t0) és 60 perccel utána (■ T4-t60).



5. ábra TRH kezelés hatása a plazma T3 szint változására kor és ivar szerinti bontásban. A TRH szignifikánsan emelte a T3 szintet minden korcsoportnál ivarra való tekintet nélkül ($p<0,0001$) és a kor szignifikáns hatást gyakorolt a T3 plazmaszint mintázatára ($p= 0,041$). Ivarérett madaraknál az ivarok között nem sikerült különbséget találni. Az oszlopok átlagot \pm SE képviselnek a log₁₀ transzformált T3 koncentrációadatokról számolva a TRH kezelés előtt (◆ T3-t0) és 60 perccel azután (■ T3-t60).

3.3.2 Hőmérsékleti alkalmazkodás vizsgálata fogságban tartott egyedeknél

A testtömeg kontrollálása: A testtömeget a 8 napos kísérlet első, ötödik és nyolcadik napján mértük, és folyamatos csökkenést mutatott (rmANOVA: $F_{[2, 18]}=12,37$, $p=0,0004$; 6. ábra). A két csoport között nem volt szignifikáns eltérés a testtömeg csökkenésben (Student's t-teszt; 1. kísérleti időszak: $\text{átlag}_{\text{meleg}}=349,0$, $\text{átlag}_{\text{hideg}}=360,8$, $t=-1,29$, $df=8$, NS; 2. kísérleti időszak: $\text{átlag}_{\text{meleg}}=344,0$, $\text{átlag}_{\text{hideg}}=336,5$, $t=0,621$, $df=7$, NS).



6. ábra A hőmérsékleti kísérletbe vont gyöngybaglyok testtömeg változása a kísérlet 8 napja alatt. Az oszlopok átlagot \pm SE hibaszórtót mutatnak.

Sem a testtömegnek, sem a kísérleti 8 napos időszaknak magának nem volt szignifikáns hatása a T3-t0, T3-t60, T4-t0 és T4-t60 értékekre (6. táblázat). A testtömeg csökkenés mértéke és a különféle hormonszintek közötti lehetséges kapcsolatokat elemezve, csak az alap T4 szint és a testtömegcsökkenés között találtunk negatív kapcsolatot. Minél nagyobb volt a testtömeg csökkenés mértéke, annál alacsonyabb volt az alap T4 szint a madaraknál (GLM, $F=6,63$, $df=1$, $p=0,019$).

A plazma T4 és T3 szintje: Mivel a két csoportnál a hőmérséklettől függő T3 és T4 mintázat teljesen konzisztens volt a két periódusban, ezért a megfelelő adatokat összevonva kezeltük. A hidegben és melegben tartott egyedek T4 alapszintjében nem találtunk szignifikáns különbséget, azonban a melegben tartott egyedek alap T3 szintje szignifikánsan alacsonyabb volt (7. táblázat).

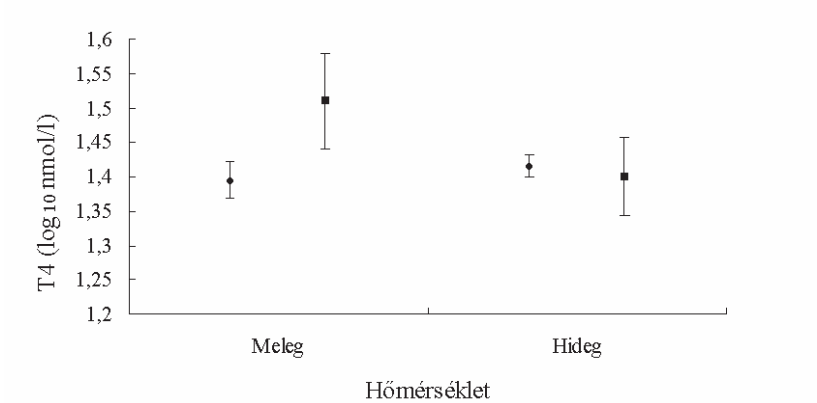
6. táblázat Student t-teszt annak vizsgálatára, hogy a kísérlet során a 8 nap alatt a két periódusban (2,-5. nap és 5-8. nap) változott-e az átlagos hormonszint. Nem volt szignifikáns különbség kimutatható. Az értékek az átlagokat és szórást mutatják \log_{10} nmol/l értékben.

	Átlag \pm SD (1 időszak)	Átlag \pm SD (2 időszak)	t-érték	df	p
Log ₁₀					
T4-t0	1,41 \pm 0,049	1,39 \pm 0,084	0,634	17	0,53
T4-t60	1,43 \pm 0,24	1,46 \pm 0,14	-0,343	17	0,74
T3-t0	0,63 \pm 0,09	0,61 \pm 0,09	0,629	17	0,54
T3-t60	0,76 \pm 0,10	0,75 \pm 0,06	0,234	17	0,81

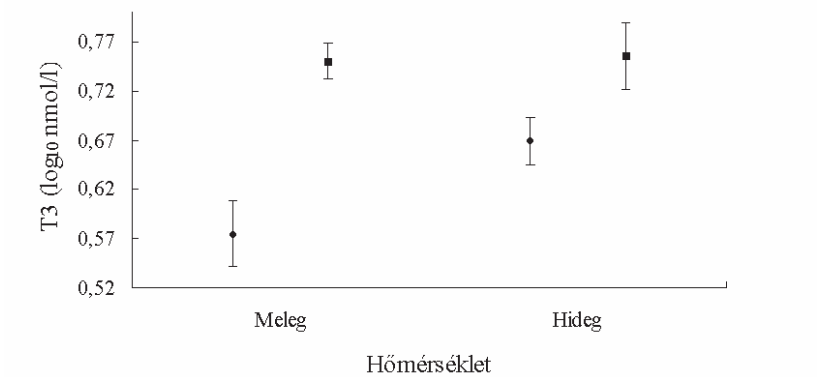
7. táblázat A T4 és T3 plazma koncentráció (nmol/l) értékek \log_{10} transzformációból származó átlag értékei, a szórások (\pm SD) és a Student t-teszt p értékei. A T3 alapszint a hidegben és melegben tartott egyedeknél szignifikánsan eltért ($p=0,033$).

		Hideg	Meleg	p
T4-t0	Átlag (nmol/l)	26,2	25,1	0,54
	\pm SD	2,88	4,73	
	n	10	9	
T3-t0	Átlag (nmol/l)	4,7	3,9	0,033
	\pm SD	0,79	0,77	
	N	10	9	

A TRH kezelés hőmérséklettől függetlenül emelte a plazma T3 szintjét (rmANOVA: $F_{[1,17]}=25,98$, $p<0,01$), ellenben a T4-re nem volt statisztikailag kimutatható hatással (rmANOVA: $F_{[1,17]}=1,54$, $p=0,23$; 7. ábra). A hidegben tartott madarak csökkent érzékenységet mutattak a TRH-ra adott válaszukat tekintve (7. ábra). A T3 plazma szintben bekövetkezett változás (az alapszint százalékában kifejezve) erőteljesebb volt a melegnek kitett madaraknál (Student T-teszt nem független mintákra: $\text{átlag}_{\text{meleg}}=131,97\%$, $\text{átlag}_{\text{hideg}}=113,88\%$, $t=3,06$, $df=7$, $p=0,022$; 8. ábra). Csak a T3 alapértékeket összehasonlítva, a hidegben tartott madarak a T3 alapszintje szignifikánsan magasabb volt, mint melegben tartott társaiké (Student T-teszt nem független mintákra, $\text{átlag}_{\text{meleg}}=0,582$, $\text{átlag}_{\text{hideg}}=0,678$, $t=-2,596$, $df=8$, $p=0,036$).



7. ábra A hőmérséklet és a TRH kezelés hatása a T4 plazma szintjére. Az oszlopok a log₁₀ transzformált hormon koncentráció adatok átlagát jelentik a standard hibával (\pm SE) a TRH injekció előtt (◆ t0) és 60 perccel utána (■ t60).



8. ábra A hőmérséklet és a TRH kezelés hatása a T3 plazma szintjére. Az oszlopok a log₁₀ transzformált hormon koncentráció adatok átlagát jelentik a standard hibával (\pm SE) a TRH injekció előtt (◆ t0) és 60 perccel utána (■ t60).

3.4 Eredmények értékelése

3.4.1 Pajzsmirigy hormonok mintázatának leírása

Az alap T4 szint a fészeklakó madarakra jellemző mintázatot mutat a gyöngybagolynál. Az 51 napnál fiatalabb fiókák magasabb T4 szinttel rendelkeznek, mint idősebb testvéreik, és ez a különbség az ivartól független. A legalacsonyabb T4 szintet az ivarérett tojóknál lehetett mérni. Ez az általános T4 hormonszint csökkenés a kor előrehaladtával statisztikailag is szignifikáns korhatást eredményezett a gyöngybaglyoknál. A madaraknál jól ismert különbség, hogy a fészekhagyó fajok fiókáinál közvetlenül a kikelést követően mérhető a legmagasabb T4 plazma szint, míg a fészeklakó madaraknál ez a csúcs fajtól függően a kikelést követő 1-3 hét múlva tetőzik (McNabb 2006). Mivel egy 16 napos fiókát leszámítva a többi mintázott fiatal madár mind 21 napos vagy annál idősebb volt, így nem tudtuk nyomon követni a kikelést követő első két-három hét hormon profil változását. A gyöngybaglyoknál az endotermia és az elsődleges fészektollazat (mesoptile) a kikelést követő 20. napra fejlődik ki teljesen. Nagyon valószínű, hogy gyöngybaglyoknál, hasonlóan más fészeklakó fajokhoz (pl. piros vállú csirőge *Agelaius phoeniceus*, Olson *et al.* 1999), a T4 a kikeléstől folyamatosan emelkedik a 18-20. napig, amikor is a saját hőreguláció kifejldik (McNabb 2006). A T4 mintázatban beálló későbbi csökkenés azonban némileg eltér a már leírt hormon profiloktól. Több fészeklakó énekes és nem énekes fajnál is azt találták, hogy a fiókafejlődés során kialakult T4 csúcs nem csökken le, hanem az lesz az adultakra jellemző érték (örvös galamb *Columba palumbus*, McNichols és McNabb 1988; széncinege *Parus major*, Silverin és Rudas 1996). Úgy tűnik, hogy létezik egy alternatív T4 profil is, amely a termoregulációval egy időben fellépő T4 csúcsot a teljes kifejldésig T4 plazmaszint csökkenéssel kíséri, majd egy alacsonyabb, nagyságrendjében a felnőttkori plazmaszintre jellemző tartományban stabilizálódik (Olson *et al.* 1999). További, lehetőség szerint fogságban kikelt fiókák kikelést követő hormonszint mérése deríthet fényt a pontosabb egyedfejlődéssel párhuzamba állítható minták leírására.

Az átlagos T4 koncentráció az ivarérett gyöngybaglyoknál mutatott ivar szerinti eltérést. E különbség értelmezése óvatosságot követel, mivel a költési időszakban (ekkor történt a mintavétel) a két ivar táplálkozási szokása, hormonális háttere (főként szexuáliszteroid) és vedlési stratégiája teljesen eltér. E három jelenség mind hatással van a PH-ok mintázatára, s bármelyikük okozhatja a jelentős ivarok közötti eltérést (Lien és Siopes 1993, Pant és Chandola-Saklani 1995). A tojóknál a nyári költési időszakban mért T4 értékek hasonlóak a költési szezon előtt végzett hőmérsékleti kísérletben mértékéhez (23,63 nmol/l ±

4,63 SD vs. 25,1 nmol/l \pm 4,73 SD, Klein *et al.* 2006). Hímekre sajnos nem áll rendelkezésre ilyen összehasonlítás. A hímeknél tapasztalt viszonylag magas T4 plazma koncentráció feltehetően összefügg azzal, hogy a költési időszakban kondíciójuk romlik. A hímekre hárul ugyanis az a feladat, hogy a kotlástól a fiókák kirepüléséig a tojót, majd a fiókákat és magukat is ellássák táplálékkal. Miután a legkisebb fióka is eléri az egyhetes kort, a tojó is bekapcsolódik a vadászatba (Durant 2002), de a hím továbbra is oroszlánrészt vállal az etetésből. Ezalatt a kb. 100 napos időszak alatt a hímek testtömeg-vesztésen mehetnek keresztül a megemelkedett vadászati aktivitás és csökkent energia-bevitel miatt. Madarakban az energiabalansz tartós negatív irányú eltolódása a hepatikus I. típusú dehidrogénáz (D1) enzim csökkent aktivitásán keresztül képes a T4 szint emelkedését előidézni (Decuyper *et al.* 2005). A hepatikus D1 enzim felelős többek között azért, hogy a T4-T3 átalakulás dehidrogénázán keresztül megtörténjen, ennek elmaradása esetén a T4-szint - átalakulás híján - megemelkedik a plazmában. Egy másik lehetséges magyarázat a két ivarnál tapasztalható T4-beli eltérésre, hogy időbeli eltolódás figyelhető meg a hímek és a tojók vedlését tekintve (Taylor 1994). A tojók az evező- és kormánytollaikat az inkubáció kezdetén kezdik lecserélni, míg a hímek mindezt akkorra időztetik, amikor a fiókák már idősebbek, és a tojó is betársul a vadászatba. Mi többnyire akkor mintáztuk a fészekaljákat, amikor a fiókák elmúltak 20 naposak, vagyis amikor a hímek kerültek az aktív vedlési időszakba. Jenni-Eiermann *et al.* (2002) sarki partfutónál (*Calidris canutus*) mutatta ki korrelatív vizsgálattal, hogy a fogságban tartott madarak vedlése egybeesett egy magas T4 csúccsal.

A PH-ok ivarszervekre kifejtett gátló hatása (gonad-inhibitory effect) fészekahagyó madaraknál hosszú ideje ismert jelenség (Lien és Siopes 1993). Pant és Chandola-Saklani (1995) vizsgálataiban leírták, hogy a fészeklakó muskátpintynél (*Lonchura punctulata*) tapasztalt reprodukív funkcióban bekövetkező gátlás nem a T3, hanem az általában kevésbé aktívnek vélt T4 hormonnak tulajdonítható. A gyöngybagoly tojóknál tapasztalt alacsony T4 szint is magyarázható ezen elv alapján, mivel a tojók jelentős hányada a mérsékeltövi klímán másodköltésbe is kezd ugyanazon fészkelési szezonon belül, amely ezek szerint nem lenne lehetséges egy magas szisztémás T4 érték mellett. Lien és Siopes (1993) összehasonlították kotló és nem kotló tojó pulykák hormonszintjeit, és szignifikánsan magasabb prolaktin, és alacsonyabb T3 és T4 plazma szintet találtak a kotló egyedeknél, mint azoknál, amelyek nem kezdtek költésbe. Amikor tehát az első költésből származó fiókák elérnek egy bizonyos kort, és nincs táplálékhiány, akkor a tojók nekikészülhetnek egy második fészkelj lerakásának, és ennek egyik komponense a megemelkedett prolaktin szint. A képlet ennél azért valószínűleg lényegesen bonyolultabb, mivel a gyöngybagoly éjszakai aktivitású ragadozó, és ezidáig nem

ismerjük az ilyen életmódú madarak pontos fotorefraktor szabályozását, illetve a reprodukzív szervek regressziójának és aktiválásának szabályozását.

A fiókák T3 profilja nem mutatott kor- vagy ivarfüggő mintázatot. Ez az eredmény egybeesik Silverin és Rudas (1996) megállapításával, akik széncinegénél mindkét ivarnál egy rövid átmeneti emelkedést találtak a kikelést követően, de összességében nem találtak karakterisztikus rajzolatot. A fentebb leírt T4-hez hasonlóan az ivarérett hímeknél átlagosan magasabb volt a mért T3 szint, mint a tojókban, de statisztikailag nem igazolható a különbség megléte. Chastel *et al.* (2003) házi verebeknél (*Passer domesticus*) szintén azt találta, hogy a költési szezonban a hímek T3 plazma szintje magasabb, mint a tojóké. A magas T3 szint alátámasztja azt a hipotézist, hogy a hímek ez idő tájt tartósan kevesebb táplálékhoz jutottak. Tyúkon végzett táplálékmegvonásos kísérletekből tudjuk, hogy a csökkent energia bevitel megemelkedett GH szintet eredményez, amely a III. típusú dehidrogén (D3) aktivitásának csökkenését eredményezi (Decuyper *et al.* 2005). A D3 elsősorban a T3-T2 konverziót katalizálja, így ennek hiányában felszaporodik a T3 a szervezetben (Kühn *et al.* 2005).

A TRH tiroxinra kifejlett hatása ellentmond a madaraknál korábban leírtaknak. Az elmúlt évtizedekben végzett nagyszámú kísérlet házi tyúkon mind azt támasztotta alá, hogy a TRH injekció képes a T4 szint emelésére csirke embrióknál és fiókáknál, de nincs hatása e téren a kifejlett egyedekre (Kühn *et al.* 1988, Kühn *et al.* 2005). A TRH hormon kifejlett madarakban a szomatotróp tengelyt serkenti, megemelve a keringő növekedési hormon (GH) szintet, és ez utóbbi aktiválja a hepatikus T4-T3 átalakulást (De Groef *et al.* 2005; 3. táblázat). Ennek következtében vagy nem változik a T4 plazma koncentráció, vagy még kissé csökkenést is ki lehet mutatni a T4 átalakulásból adódóan. A mi eredményeink szerint a TRH hatására sem a fiókák, sem az ivarérett hímek T4 szintje nem változott, viszont szignifikáns emelkedés volt kimérhető adult tojóknál végzett TRH kezelést követően. Ezek az eredmények nehezen összevethetőek az irodalomból ismert hasonló TRH stimulációs tesztekével, mivel azokat mind fészekahagyó (javarészt házi baromfi) fajokon végezték el. Ismert, hogy a fészeklakó és fészekahagyó fejlődési módok egyik alapvető fiziológiai háttérkülönbsége a PH-ok profilja (McNabb *et al.* 1998, Olson *et al.* 1999, McNabb 2006), ezért elképzelhető, hogy a TRH-ra adott hormonválasz is eltér a két csoportnál. A fiókáknál tapasztalt meglepő válaszhiány magyarázható a magas T4 értékekkel, amelyek a maturációval csökkennek. A magas T4 plazma koncentráció negatív visszacsatolási szignálként szerepel a hipotalamusz számára, amely a pajzsmirigy tengely kontrolláló szerve (házi tyúk, Bartha *et al.* 1989). A TRH hatására beálló kiugró emelkedés ivarérett tojó gyöngybaglyoknál éppen ezért talán a nagyon alacsony T4 alapértékekből adódik.

A TRH trijód-tironinra (T3) kifejtett hatása, vagyis a T3 szignifikáns emelkedése minden korcsoportnál az irodalmi adatokkal egybevág (Kühn *et al.* 1988). A TRH-nak mind a II., mind a III. típusú (D2, D3) deiodáz enzimre van hatása. A TRH ugyanis stimulálja a hepatikus 5'-deiodáz aktivitást a D2 enzim transzkripciójának serkentésén keresztül, amely enzim a T4-T3 konverziós utat katalizálja, növekvő intracelluláris T3 szintet okozva ezáltal. Másfelől a TRH-indukált GH emelkedés hatására csökken a hepatikus D3 aktivitás, amely a T3 deaktiválást végző legfontosabb enzim, így a T3 deaktiválásának elmaradása végső soron megint csak a T3 szint emelkedéséhez vezet.

Következtetésként a fenti eredmények alapján feltételezzük, hogy a fészeklakó madarak körében két pajzsmirigy fejlődési mintázat fordulhat elő a post-embrióális egyedfejlődési időszakban. Gyöngybagoly fiókáknál, csakúgy, mint a piros vállú csirögénél (Olson *et al.* 1999) a termoreguláció kialakulásának időpontja összefüggést mutat a T4 profil kiugró magas csúcának kialakulásával. E két fajnál ezt követően csökken a plazma T4 szintje egy alacsonyabb, felnőtt korra jellemző értékig. A vizsgált madarak másik csoportjánál a T4 folyamatosan emelkedik a vérben a teljes kirepülésig (széncinege *Parus major*, Silverin és Rudas 1996; örvös galamb *Columba palumbus* McNichols és McNabb 1988). Ennek az ezidáig le nem írt összefüggésnek a tesztelése csak több taxon bevonásával lehetséges.

Más fészekhagyó madaraktól eltérően a gyöngybagolyfiókák T4 szintjét nem lehetett befolyásolni TRH kezeléssel. Mivel ezidáig nem készült hasonló TRH stimulációs vizsgálat egyéb fészeklakó fajokon, fontos lenne megvizsgálni, hogy ez csupán egy egyedi, fajra jellemző tulajdonság, vagy nagyobb taxonómiai skálán is érvényes PH mintázat. A jövőbeni vizsgálatok meg kell, hogy célozzák a 20 napnál fiatalabb fiókák mintázását is, hogy a teljes poszt-embrióális fejlődésről leképezhető legyen a PH-ok profilja. Felmerül továbbá a kérdés, hogy mi okozhatja az ivarfüggő T4 és T3 mintázatot az ivarérett példányoknál. Elsősorban fogságban tartott sérült madarakon végzett táplálékmegegyezési kísérletek (ld. Handrich *et al.* 1993a, 1993b, Massemin *et al.* 1997), a szexuál-szteroidok szimultán mérése és a vedlés pontos monitorozása adhatják meg a lehetséges válaszokat.

3.4.2 Hőmérsékleti alkalmazkodás vizsgálata fogságban tartott egyedeknél

Az ehhez a vizsgálathoz kapcsolódó eredmények is alátámasztják, hogy a gyöngybagolyok pajzsmirigy funkcióit sikeresen lehet vizsgálni a klasszikus TRH stimulációs módszerrel. Azonban az is megállapítható, hogy a T3 válasz sokkal karakterisztikusabb, míg a mért T4 hormonszint a jelen esetben olyan nagy varianciát mutat, hogy abból tendenciát

leolvasni nem lehetett. A TRH tiroxinra kifejtett hatása, összhangban a 4.2.1 fejezetben leírtakkal, ellentmond a madaraknál korábban tapasztaltakkal (TRH nem képes megemelni a kifejtett egyedek T4 szintjét (Kühn *et al.* 1988, Kühn *et al.* 2005). A TRH hormon kifejtett madaraknál még csökkenteni is képes a T4 szintet oly módon, hogy a szomatotróp tengelyt serkenti megemelve a keringő növekedési hormon (GH) szintet, amely aktiválja a hepatikus T4-T3 átalakulást (De Groef *et al.* 2005).

A táplálkozás, kondíció és zsírraktárak mind képesek befolyásolni a T4 szintet (Van der Geyten *et al.* 1999, Wingfield *et al.* 2003). Emiatt feltételezhető, hogy a jelentős variancia a T4 szintekben és válaszokban is abból adódik, hogy az egyedi különbségek léteznek a táplálékmegvonásra adott válaszokban. Ezt alátámasztja, hogy a testtömegcsökkenés kovariált az alap T4 szinttel: minél nagyobb mértékű volt a testtömegvesztés, annál alacsonyabb volt a plazmában mérhető alap T4 szint. Ez az eredmény átfed Wingfield *et al.* (2003) cikkében leírtakkal, de ellentmond Bartha *et al.* (1989) munkájának. Wingfield *et al.* (2003) vizsgálataiban a koronás verébsármányok az alacsony hőmérsékleten testtömeget vesztek, és ezzel párhuzamosan a kezdeti T4 szintjük is alacsonyabb volt. Ugyanakkor Bartha *et al.* (1989) azt találta, hogy a kifejtett tyúkokat vizsgálva a csökkentett táplálékbevitel csökkent mértékű T4-T3 átalakulást eredményezett az alacsonyabb aktivitású hepatikus dejodináció miatt. Mindezt megerősíti Van der Geyten *et al.* (1999) kísérletében, ahol éhezés során a TSH szint folyamatosan csökkent, viszont a T4 szint emelkedett, s ezt a perifériás szövetek gátolt T4 felvételével magyarázzák. Ezen eredményekből kiindulva azt vártuk volna, hogy csökkent T3 és emelkedett T4 szint kíséri a folyamatosan csökkenő testtömeget. Ezzel ellentétben nem volt kimutatható hormonszint csökkenés a kísérlet két fázisa között. A szignifikáns testtömeg csökkenés egy nem várt mellékterméke volt a kísérletnek, amely abból fakadt, hogy a madarak az *ad libitum* felkínált és általuk megszokott táplálékot nem fogyasztották megfelelő mennyiségben. Ez feltehetően a megváltozott körülményeknek, és a túlzottan rövid (2 napos) szoktatási időszaknak tulajdonítható. A jövőben egyfelől hosszabb akklimatizációs időszakot kell megengedni a tényleges kísérlet előtt, másfelől érdemes lenne vizsgálni a táplálékmegvonás PH-ra kifejtett hatását termoneutrális körülmények között.

A gyöngybaglyok termális adaptációjával ezidáig csupán néhány publikáció foglalkozott (pl. zsírmobilizálás Handrich *et al.* 1993a, 1993b, Thouzeau *et al.* 1999, Massemmin *et al.* 1997; hőszigetelés McCafferty *et al.* 1997a, 1997b, 1998, 2001), de a hormonális háttérrel egyik munka sem tárt fel. A jelen vizsgálatban a fogságban tartott gyöngybaglyokat két eltérő környezeti hőmérsékletnek tettük ki. Mindkét hőmérséklet a gyöngybaglyok számára neutrálisnak gondolt tartomány alatt volt, amit Handrich *et al.*

(1993a, b) 25-33 °C között határozott meg. A termoneutrális hőmérséklet az a tartomány, amelyen belül az endoterm állatoknak nem kell az anyagcsere rátájukat fokozniuk ahhoz, hogy állandó testhőmérsékletüket fenntartsák, vagyis nem kerül plusz energiába a testhőmérséklet fenntartása (ez utóbbi gyöngybaglyoknál 40 °C körül van).

Az alap T3 plazma szint szignifikánsan magasabb volt azoknál az egyedeknél, amelyeket hidegben tartottunk, és a TRH-ra adott T3 emelkedés is kisebb mértékű volt. Az agyalapi mirigy - pajzsmirigy tengely TRH-val szemben mutatott csökkent érzékenysége a megemelkedett T3 szintnek, és az ebből fakadó negatív visszacsatolásnak tudható be. A hideg körülmények között mérhető magas T3 szint és a pozitív kapcsolat a T4 szint és hőmérséklet között általános mintázatnak tűnik a madarak körében (Dawson *et al.* 1992, Burger és Denver 2002). Habár a legtöbb tanulmány a PH-ok szezonális variációját a hideg hőmérsékletre adott megemelkedett táplálékbevitellel magyarázza, a mi eredményeink ezt a hipotézist nem támasztják alá. A jelen kísérletben szereplő baglyok folyamatos súlyvesztésen mentek át, mivel az *ad libitum* felkínált táplálék ellenére sem táplálkoztak kielégítően. Mindezekkel szemben, megemelkedett táplálékbevitel hiányában is nőtt a T3 szint hideg környezetben. Collin és munkatársai (2003) eredményeivel egyetértve azt feltételezzük mi is, hogy a környezeti hőmérséklet változására bekövetkező szezonális variáció nem feltétlenül a megváltozott táplálékbevitellel vagy energia-ekvivalensekkel kapcsolatos. Collin *et al.* (2003) munkájában kimutatta, hogy a hidegnek kitett csirkénél mért magas T3 szint kiváltója lehet a megemelkedett avUCP mRNA expressziójának. A madarak mitokondriális szétkapcsoló fehérjéje (avUCP, avian uncoupling protein) felelős azért, hogy a foszforilációs (ATP szintézis) utat elterelje az oxidáció irányába, ami végső soron hőt termel (Raimbault *et al.* 2001, Collin *et al.* 2005). Ez a folyamat jól ismert emlősöknél, és feltehetően hasonlóan zajlik le madaraknál is, de a molekuláris mechanizmusok nem tisztázottak. Feltehető, hogy az UCP fehérjék a mitokondrium belső membránjába történő beépülésükkel megváltoztatják a membrán proton-permeabilitását, ezáltal a potenciálkülönbséget a membrán két oldalán (Collin *et al.* 2005). Az emlősöknél meglévő egyes, kettes és hármas típusú szétkapcsoló fehérjék (UCP1,-2,-3) nagyfokú homológiát (55-70%) mutatnak a madarak avUCP fehérjéjével (Raimbault *et al.* 2001), s ezek mindegyikének expressziója T3-mal stimulálható.

A T3 hormon termoregulációban betöltött szerepét molekuláris vizsgálatokat nélkülöző korábbi megfigyelések is alátámasztják. A T3 szint és a környezeti hőmérséklet közötti fordított összefüggés több fajon is kimutatható volt (Groscolas és Leloup 1986, Brigmon *et al.* 1992). Ez utóbbi munkában pingvin fajokon akkor találtak kiugróan magas T3 értéket, amikor a vedlést követően a madarak hőszigeteltsége romlott, és ezzel párhuzamosan

testtömegcsökkenés és testhőmérséklet emelkedés volt mérhető. Egy másik tanulmányban kültéri röpdékben tartott sarki partfutó (*Calidris canutus*) csapatok T4 és T3 hormonszintjét vizsgálták másfél éven át, és a magas T3 szint a hideg téli időszak alatt volt mérhető (Jenni-Eiermann *et al.* 2002).

A jelen eredmények azt mutatják, hogy a gyöngybagoly számos érdekes újdonságot hordoz magában a pajzsmirigyhormonok vizsgálata terén, és ezek mind evolúciós, mind öko-fiziológiai, mind pedig egyedfejlődési szempontból érdekesek lehetnek. A hőmérsékleti szélsőségekkel szemben mutatott evolúciós válaszok feltárásához további kísérletes vizsgálatok szükségesek.

4. Populációgenetikai kapcsolatok

4.1 Bevezetés

Populáció- és konzerváció-genetikai szempontból egyaránt érdekes és kurrens a populációkat sújtó palacknyak-hatás vizsgálata (Lambert *et al.* 2005, Laroche és Durand 2004, Xia *et al.* 2005). Ha a populáció valamilyen katasztrófa hatására egyedszámában hirtelen megfogytokzik, az egyedszámcsökkenés együtt járhat – de nem feltétlenül jár együtt – genetikai palacknyak-hatással. Ez utóbbi következménye a populációban fellelhető allélgyakoriságok megváltozása, a ritka allélok elvesztése, a heterozigócia szint esetleges csökkenése és a genetikai variabilitás (allélszám) általános csökkenése az eredeti kiindulási populációhoz képest (Pecsénye 2006). Hosszabb-rövidebb idő elteltével a migráció és a mutáció képes változó mértékben kompenzálni a genetikai varianciában fellépő hiányt, de addig is a populáció veszít evolúciós potenciáljából (England *et al.* 2008, Allendorf és Luikart 2007), ráadásul az egyedszámbeli regenerálódást követően az újra felerősödött populáció genetikai összetétele jelentősen eltér a kiindulási állapottól, így a palacknyak-hatás potenciálisan az egyik legerőteljesebb evolúciós tényező.

A palacknyak-hatás – intenzitása alapján – folytonos skálán minősíthető annak megfelelően, hogy hány generációt érint és az effektív populációméret milyen mértékben csökken le. Ezek alapján a több generáción keresztül tartó, viszonylag nagyobb egyedszámmal túlélő populációt diffúz (pl. ázsiai oroszlán *Panthera leo persica*, O'Brien 1994), míg a néhány generációt, de drasztikus egyedszám-csökkenéssel kísért beszűkülést intenzív palacknyak-hatásnak nevezzük (pl. elefántfóka *Mirounga angustirostris*, Hoelzel *et*

al. 1993; Mauríciuszi vércse *Falco punctatus*, Groombridge *et al.* 2000). A kétféle palacknyak-hatás eltérő következményekkel járhat a genetikai varianciára nézve (Frankham 2003). A genetikai variancia két komponense, a heterozigócia és az alléldiverzitás alapvetően szorosan korreláló értékek, és ezt a kapcsolságot lazítja fel a palacknyak-hatás. Bármennyű palacknyak-hatás következtében az allélok sokféleségének mértéke gyorsabban csökken le, mint a heterozigóciáé, de ez a különbség intenzív palacknyak-hatás esetén kifejezettebb (England *et al.* 2008). Ennek oka, hogy a ritka allélok, amelyek csak kis mértékben járulnak hozzá a heterozigóciához, nagyon könnyen elvesznek egy hirtelen beálló jelentős populációméret-csökkenés során (Nei *et al.* 1975, Furest és Maruyama 1986).

A heterozigócia és allél-diverzitás kérdése komolyan érinti egy faj populációjának evolúciós potenciálját. Általánosan elterjedt vélemény, hogy egy populáció rövidtávú evolúciós potenciálját elsősorban a heterozigócia szintje határozza meg. Ennek magyarázata, hogy ha az egyedek sokféle alléllal rendelkeznek, akkor nagyobb eséllyel képesek reagálni a hirtelen megváltozott környezetre (pl. MHC rezisztencia gének, mimikrit segítő szinpolimorfizmus gének stb.). Ugyanakkor a hosszú távú evolúciós potenciál - a heterozigócián túl - nagyban függ a populációban összesen fellelhető génvariációk (allélek) számától (Frankham *et al.* 2002).

Számos veszélyeztetett faj megy át időről-időre palacknyak-hatáson. A következmények azért lényegesek, mert a palacknyak-hatásra kialakuló kis populációkban a sztochasztikus folyamatok gyakoribbakká válnak, és egymást erősítve a populációt kihalási örvény felé vezethetik (Standovár és Primack 2001, Spong és Hellborg 2002). A demográfiai sztochaszticitás (egyenlőtlen ivararány, eltolódott koreloszlás, Allé-hatás) (Møller és Legendre 2000), a genetikai sztochaszticitás (drift, beltenyésztési leromlás, csökkent fitnesz) és a populációdinamikában bekövetkező változások (metapopulációs szerkezet, szegélyhatás, szaporodási és mortalitási ráták megváltozása) mind következményei egy jelentős populációs beszűkülésnek, vagyis a demográfiai palacknyak-hatásnak. A fentiekből ugyanakkor az is világosan kettéválk, hogy a demográfiai és a genetikai palacknyak-hatást szükséges megkülönböztetni, ez utóbbi ugyanis nem egyenes következménye az előbbinek.

Természetvédelmi és evolúciós szempontból érdemes egy további különbségtételre is odafigyelni: az antropogén és a természetes eredetű palacknyak-hatásra. A természetes palacknyak-hatás az egyik legfontosabb evolúciós motor, mivel egy-egy populáció allélgyakoriságát, ezáltal evolúciós potenciálját drámaian képes megváltoztatni. Számos esetben a palacknyak természetes része egy-egy közösség dinamikájának, és nem gátja a hosszú távú fennmaradásnak. Erre szolgáltatnak példát a rágcsló populációk, amelyeknél szélsőségesen

nagy ingadozások (50-500-szoros különbség a populáció denzitásában) játszódnak le periodikusan. Nehéz elképzelni, hogy ezek a természetes kilengések kipusztuláshoz vezető genetikai elszegényedést okoznának az időről-időre bekövetkező gradáció majd a populációs összeomlás miatt (Redeker *et al.* 2006). Ennek egyik szélsőséges esete a dél-amerikai társas tukó (*Ctenomys sociabilis*), amely populációgenetikai adatok és szubfosszilis csontleletekre alapozott számítások alapján mintegy 2800 évvel ezelőtt 99,7%-os palacknyakon ment át, de a mai napig életképes populációkat tart fenn jelentéktelen genetikai variabilitás mellett is (Chan *et al.* 2006). Igen valószínű, hogy a természetes környezeti fluktuációkból adódó populációs palacknyaknak sok esetben nincs hirtelen ható populációgenetikai következménye. Ugyanakkor ismerjük az afrikai gepárd (*Acinonyx jubatus*) példáját is, ahol az egyedülállóan elszegényedett genetikai variabilitás következménye a csökkent fekunditás és túlélés lett. A gepárd állomány genetikai egyneműségét a pleisztocén-kori eljegesedés idejére vezetik vissza (Menotti-Raymond és O'Brien 1993), amelyet csak felerősítenek a modernkori antropogén veszélyeztető tényezők, mint az élőhely-vesztés vagy a vadászat.

Tisztán antropogén hatásra kialakuló palacknyakra számos példa lelhető fel az irodalomban. Ezek az esetek abból a szempontból aggályosabbak, hogy nem illeszkednek a természetes folyamatokba és evolúciós skálán mérve pillanatok alatt következnek be. Jó példa erre a folyószabályozásból és a vizes élőhelyek feldarabolódásából eredő genetikai elszegényedés a Rhone-vidéki bucó (*Zingel asper*) kis populációiban (Laroche és Durand 2004).

A közép-európai gyöngybagoly populációnál ismert, hogy egy-egy kedvezőtlen időszakot követően az állomány jelentős hányada elpusztul, aminek az oka vagy egy hosszán tartó hóval borított időszak (Altwegg *et al.* 2003), vagy szórványosan bekövetkező szélsőségesen hideg telek (Altwegg *et al.* 2006). Utóbbi munka 1934 és 2002 között gyűjtött gyűrűzés-visszafogási adatok és időjárás mutatók együttes vizsgálatából kimutatta, hogy a legkeményebb svájci teleket követően a populációméret egyharmadára zuhant. Egzakt, klimatikus adatokkal egybevetett magyarországi vizsgálat nem áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a Kárpát-medencében milyen arányú a gyöngybagolyok pusztulása ilyen telek során. Mivel azonban az első, másod majd harmadéves madarak mortalitása a kontinentális éghajlatú Európában 65-75%, 40-60% és 30-40% (Taylor 1994), és figyelembe véve Altwegg *et al.* (2006) eredményeit, talán nem túlzó az a becslés, hogy egy-egy szélsőséges tél során a teljes hazai állomány 60-75%-a is elpusztulhat. A legutóbbi emlékezetes gyöngybagolypusztulás 2002-2003 telén fordult elő Magyarországon. Ekkor egy

Baranya megyei mintapopulációban egyik évről a másikra 27%-ra csökkent a rendszeresen ellenőrizhető párok száma (84-ről 22-re, Mátics *et al.* 2008).

A globális klímaváltozásra tekintettel lényeges kérdés, hogy az időjárási szélsőségek felerősödésével hogyan változik meg fajok, különösen a sérülékeny, vagy védelemtől függő fajok túlélése, populációdinamikája. A gyöngybagolynál ismert, természetes előforduló populációs fluktuáció mintázata – és ezzel együtt a faj elterjedése – is megváltozhat néhány évtized alatt, de alfajok és populációk eltűnését is maga után vonhatja. A Kárpát-medence trendjeit vizsgálva az Európában általánosan érvényesnek vélt irányvonalak rajzolódnak ki: általános szárazodás és felmelegedés várható, téli csapadék extrémítások gyakoribbá és szélsőségesebbé válásával (Bartholy *et al.* 2007a, b). Ez utóbbi jelenthet kihívást a gyöngybaglyok számára, hiszen gyakorivá váló szélsőségesen csapadékos telek hatására mind gyakrabban mehet át a hazai populáció palacknyak-hatáson. Ha a hazai telek havazáshoz még elég hidegek maradnak, és egyttal csapadékosabbakká válnak, ez összességében megemeli a hóval borított napok számát, amely a gyöngybaglyok számára a legfőbb természetes mortalitási faktor (Taylor 1994, Altwegg *et al.* 2003, 2006).

A gyöngybaglyok populációdinamikájának a kontinentális klímán valószínűleg természetes része az időről-időre bekövetkező populációs beszűkülés. Ezt a hatást csökkentheti az immigráció, a diszperzió (Mátics 2003) és a mutáció. Az egyedszámcsökkenést követő szaporodási ráta, vagyis a populáció visszatérési sebessége (reziliencia) szintén lényeges a populáció regenerálódási képességét tekintve (Allendorf és Luikart 2007). Ez utóbbi gyöngybaglyok esetén, lévén emberi védelemtől függő faj, az elérhető költőhelyek minőségétől és mennyiségétől függ (Klein *et al.* 2007).

A recens palacknyak-hatás kimutatása módszertani szempontból felvet néhány dilemmát. Egyfelől szem előtt kell tartani, hogy bizonyos esetekben a populációméretben bekövetkező csökkenésnek nincsen (azonnal) kimutatható genetikai következménye (England *et al.* 2008, Frankham 2003). Másfelől ha van is, előfordul, hogy az allélgyakoriság-eloszlásokat alapul vevő statisztikai módszerek a palacknyak-hatás kimutatására néhány olyan populációban sem képesek, ahol pedig a populáció bizonyítottan átment egy drámai létszámcsökkenésen (Bush *et al.* 2007). Példa a skandináv hiúz esete, ahol az 1920-as évekre 30 egyedre becsülték az életben maradt egyedek számát, ma mégsem lehet nyomát lelteni a valamikori palacknyak-hatásnak (Spong és Hellborg 2002). Ennek számos oka lehet, (i) nincs a heterozigóciára gyakorolt hatása a populációs palacknyaknak, (ii) a migráció szerepe nagyon jelentős a genetikai felfrissülésben, (iii) a mintaszám kicsi, (iv) esetleg a választott genetikai marker nem megfelelő. Mindezek kiküszöbölését számos munkában akként oldják

meg, hogy a létező összes palacknyak-hatást detektáló módszert egyszerre alkalmazzák (program M - Garza és Williamson 2001, BOTTLENECK - Cornuet és Luikart 1996, k és g tesztek - Reich *et al.* 1999). Másfelől különféle genetikai markereket egyszerre vizsgálnak (pl. mitokondrium kontroll régió, mikroszatellit és miniszatellit adatok), és még a mikroszatellit adatokra is különböző mutációs modelleket futtatnak (ld. 4.2 fejezet, 9.4 melléklet). Mindezek arra hívják fel a figyelmet, hogy egyszeri mintavételezésen alapuló recens palacknyak-hatás vizsgálatnál a másodfajú hiba (nem észlelünk egy meglévő palacknyak-hatást) jelentékeny lehet még körütekintően megválasztott módszertan mellett is (Williamson-Natesan 2005).

A közelmúltban lejátszódott palacknyak-hatás kimutatása legkönnyebben és megbízhatóan polimorf mikroszatellit lókuszok segítségével történhet. A gyöngybagolyra nem állt rendelkezésre mikroszatellit marker készlet, így a palacknyak-hatás vizsgálatának feltétele és első állomása ezek kidolgozása volt. Ezt univerzális madár-mikroszatellit lókuszok kereszt-tesztelésével és gyöngybagoly-specifikus mikroszatellit primerek tervezésével kívántuk elérni. A megfelelő marker-készlet elkészülte után a következő kérdésekre kerestük a választ.

Van-e valamilyen sajátos mintázat a mikroszatellit lókuszokban, amely genetikai elszegényedésre utal (alacsony heterozigócia, alacsony allélszám)?

Kimutatható-e allélgyakorisági adatok segítségével közelmúltban lejátszódott palacknyak-hatás?

Adható-e szimulációk segítségével becslés arra vonatkozóan, hogy milyen hatása lenne egy rövid, de intenzív, vagy egy időben elnyújtottabb diffúz palacknyak-hatásnak az allélgyakoriság eloszlásra és a heterozigócia szintre?

Megállapítható-e egy olyan minimális (túlélő) populációméret, amelynél már nincs jelentős allélvesztés? Tehető-e ez alapján bármiféle megalapozott természetvédelmi javaslat?

4.2 Anyag és módszer

4.2.1 Mikroszatellit primerek tesztelése

A vérminták a pajzsmirigyhormon mérések mintavételezésekor lecentrifugált vér sejtes frakciójából származtak Baranya, Somogy és Tolna megyékből (47°02'N, 17°33'E és 45°50'N, 18°29'E). A vérmintákat parafilmrel fedett mikrocentrifuga csövekben, abszolút etanollal konzerválva tároltuk a feldolgozásig. A nukleáris DNS extrakcióját a Nicholls *et al.* (2000) által leírt ammónium-acetátos módszerrel végeztük. A tesztelt mikroszatellit lókuszok három különböző készletből származtak: 1) korábban baglyokra leírt és publikált (56 pár)

mikroszatellit primerek: Lanyu füles kuvik *Otus elegans botelensis*, Hsu *et al.* 2006, Hsu *et al.* 2003; Gatyás kuvik *Aegolius funereus*, Koopman *et al.* 2004; Brazil törpe kuvik *Glaucidium brasilianum*, Proudfoot *et al.* 2005; Üregi bagoly *Athene cunicularia*, Korfanta *et al.* 2002; Eurázsiai uhu *Bubo bubo*, Isaksson *et al.* 2002; Mexikói pöttyös bagoly *Strix occidentalis lucida*, Thode *et al.* 2002. 2) Elvégeztük 134 olyan mikroszatellit primer pár tesztelését is, amelyeket korábban más családokhoz tartozó fajokra (javarészt énekesekre és parti madarakra) dolgoztak ki, és primerkötő régiójuk konzervatívnak mutatkozott egymástól távoli csoportokkal végzett tesztelésnél is (Dawson 2007, Dawson nem publikált eredmények, Küpper *et al.* 2008, BIRDMARKER adatbázis

www.shef.ac.uk/misc/groups/molecol/deborah-dawson-birdmarkers.html, 2008.06.01.). Ezek tehát olyan variábilis lókuszek, amelyek nagy eséllyel amplifikálhatnak a gyöngybagolynál is. 3) Végül részt vettünk a svájci Alexandre Roulin csoportja által 2007-ben megrendelt gyöngybagoly-specifikus primer készlet tesztelésében is (Burri *et al.* 2008). Ezek a lókuszek (26 db) DNS könyvtárból lettek kiválasztva, és a kapott primerek alkalmazhatóságát teszteltük. Összesen tehát 216 primer párt teszteltünk az alábbi négy lépésben: (1) PCR (Polymerase Chain Reaction) körülmények optimalizálására, (2) a kapott termék polimorfizmusának tesztelése 5-10 egyeden, (3) a polimorf lókuszek megszekvenálása, (4) Hardy-Weinberg egyensúly- vagy null-allél devianciát mutató lókuszek primereinek újratervezése.

A PCR reakciókat 10 µl végtérfogatban futtattuk MJ Research PTC DNA Engine Tetrad készüléken. Az optimális primerkapcsolódási hőmérsékletet (annealing temperature, T_a) minden primer párra 12 fokozatú grádiens PCR programot használva határoztuk meg 45 és 65 °C fokos értékek között. Ha szükséges volt, akkor a PCR reakció specificitásának növelését a $MgCl_2$ és/vagy a dNTP koncentráció változtatásával végeztük 1,5 - 3,0 mM $MgCl_2$ és 1,5 - 4,0 mM dNTP koncentráció tartományon belül (8. táblázat). Az optimalizálást követően minden 10 µl-es reakcióban 30 ng DNS, 5 pMol forward és reverse primer, 2,5 mM dNTP, 1,5 - 3,0 mM $MgCl_2$ és 0,4 egység Taq DNS polimeráz (Bioline) volt kimérve a gyártó pufferoldatával (végkoncentrációk: 16 mM $(NH_4)_2SO_4$, 67 mM Tris-HCl (pH 8,8 25°C-on), 0,01% Tween-20). A PCR program a következő volt: 3 perc 94°C-on denaturáció, majd 34x [94°C 30 sec, T_a 30 sec, és 72°C 30 sec], ezt követte egy 3 perces végső, 72°C-os lépés. A PCR termékeket 1,5%-os agaróz gélen futtatva Syber Safe™ (Invitrogen Corp., USA) festéssel ellenőriztük UV lámpa alatt. A polimorf lókuszek genotipizálása ABI 3730 DNS szekvenálón történt a Genemapper 3.7 program segítségével (Applied Biosystems, 9.3 melléklet 20. ábra.) Minden egyes polimorf lókuszt legalább egy allélját megszekvenáltuk

(homozigóta egyedből, pGEM T-easy kit; Promega). A szekvenáláshoz M13 primert használtunk (M13F – CACGACGTTGTAAAACGAC, M13R – CAGGAAACAGCTATGACC), és mindkét irányban megtörtént a leolvasás. A szekvenciák illesztése, komplementálása és editálása a FinchTV (www.geospiza.com/finchtv.html), ClustalX (Thompson *et al.* 1997) GenDoc (Nicholas *et al.* 1997) programokkal történt. Ezt követően a gyűrűzési adatok alapján 58 genetikailag független (nem rokon) egyedet választottunk ki, és minden lókuszra elvégeztük a genotipizálást. (Összesen 145 egyedtől -22 felnőtt + 123 fióka- sikerült a két év alatt mintát gyűjteni. Ezek között voltak teljes családok, csak fiatalok, és egyedülálló adultak. A leíró jellegű populációgenetikai paraméterek meghatározásához (He, Ho, null-allél, HWD) genetikailag független egyedeket kell használni. A közel rokon egyedek hasonló génkészletet hordoznak, és egy nagy család bevitel az elemzésbe (pl. két szülő és 8 utód) eltorzíthatja az allél-sokféleség, heterozigócia stb. értékeket kis mintaszámmal.) A null-allélok gyakorisági tesztelését a CERVUS v2.0 programmal (Marshall *et al.* 1998) végeztük (szignifikáns az eltérés, ha a null-allél gyakoriság $>0,1$), míg a Hardy-Weinberg egyensúlyt (HWE) és a lókuszok közötti kapcsolságot a szigorúbb algoritmus alapján működő GENEPOP v.3.4 program (Raymond és Rousset 1995) alapján számítottuk (a lókusz allélgyakoriságai szignifikánsan eltérnek a HW egyensúly esetén tapasztalható értékektől, ha $p>0,05$). Azokat a lókuszokat, amelyek magas HWE vagy null-allél eltérést mutattak, gyöngybagolyból nyert pontos szekvenciát alapul véve a PRIMER3 v.0.4.0 program (Rozen és Skaletsky 2000) segítségével újra terveztük. Az újratervezett primerekkel a fenti teszteléseket ismét elvégeztük. A palacknyak-hatás vizsgálatokhoz csak 20 olyan polimorf lókuszt használtunk, amelyek nem tértek el szignifikánsan az elfogadható null-allél gyakoriságtól (a kihagyott 4 lókusz: Boow19, BMATATC453 és Tgu-Gga 13-017 és TGU-Gga-04-061). A lókuszok ivari kromoszómához való kötődéséhez a P2/P8 primerek segítségével határoztuk meg az egyedek ivarát (Griffith *et al.* 1998). 13 lókuszra elkészítettük a csirke genomon prediktált géntérképet MapChart program segítségével (Voorrips 2002) Dawson *et al.* (2006) és Dawson (2007) alapján.

4.2.2 Palacknyak-hatás vizsgálat

Recens palacknyak-hatás kimutatására leggyakrabban használt szoftver a BOTTLENECK (Cornuet és Luikart 1996). A program a következő elméleti megfontolás alapján kalkulálja ki a közelmúltban bekövetkezett palacknyak-hatás valószínűségét: azok a populációk, amelyek effektív populációméretükben jelentős csökkenésen mentek át a

közelmúltban, az egyedszám csökkenéssel párhuzamosan allélszám-csökkenést (k) és heterozigócia csökkenést (H_e , Hardy-Weinberg heterozigócia) szenvedhetnek a polimorf lókuszokon. Az allélszám-csökkenés azonban gyorsabban megy végbe, mint a heterozigócia vesztés, így egy recens palacknyak-hatáson átesett populációban a megfigyelt heterozigócia a csökkent allél-diverzitás mellett magasabb, mint a várt egyensúlyi érték (H_{eq}), ahol H_{eq} jelentése: a vizsgálandó populációnk méretével azonos méretű populációban elvárható heterozigócia, ha feltételezzük, hogy a drift és a mutáció egyensúlyban vannak. E két utóbbi akkor van egyensúlyban, ha a közelmúltban nem volt jelentős populációs összeomlás. Másik feltételezésünk, hogy H_{eq} allélszámát tekintve megegyezik a vizsgálandó populáció várt heterozigóciájával (H_e). Vagyis a vizsgálandó populációnk heterozigóciáját (H_e) összevetjük egy ugyanolyan, de egyedszámában tartósan stabil populáció várható heterozigócia értékével (H_{eq}). Recens palacknyak-hatást követően H_e többnyire magasabb mint H_{eq} , mivel a palacknyak-hatás eredményeként az allélszám-csökkenés gyorsabban áll be, mint amilyen hamar a heterozigóciában csökkenést lehet észlelni.

A H_e és H_{eq} értékek összevetésére a BOTTLENECK program 3 fféle tesztet futtat 3 mutációs modell alapján. A heterozigócia túlsúly ($H_e > H_{eq}$) főként azoknál a lókuszoknál mutatható ki, amelyek az Infinite Allele Model (IAM) szerint evolválódnak. E modell azt feltételezi, hogy bármely ismétlésszámú mikroszatellit allélból eljuthatunk bármely más ismétlésszámú allélba. Ha az adott lókusz szigorúan csak az egy lépéses mutációs modellt (Stepwise Mutation Model, SMM) követi, akkor a heterozigócia túlsúlyt nehéz detektálni (Cornuet és Luikart 1996). Azonban igen kevés lókusz követi szigorúan az SMM-t, a jelen vizsgálatban használt mikroszatellit lókuszokra pedig legmegfelelőbb egy átmeneti, úgynevezett „Two-Phased Model” (TPM) alkalmazása (Piry *et al.* 1999, Lee *et al.* 2001), ahol az SMM és IAM mutációs lépések bizonyos arányban fordulnak elő. A BOTTLENECK programban beállítható, hogy a mutációs lépések hány százaléka legyen SMM és IAM (javasolt arány: 90-95% SMM/ 5-10% IAM, Luikart *et al.* 1998). A TPM varianciája is beállítható a tesztben, ennél 10-12 % a szokásos érték (Piry *et al.* 1999). A beállítások során követtük a javasolt értékeket: 90% SMM/10% IAM lépés arány, 12% variancia a TPM modellben. Vizsgálataink során ugyan magunk is a mostani szakirodalomban elfogadott TPM modell alkalmazására hagyatkoztunk, a teljességhez hozzátartozik, hogy a mikroszatellit lókuszok pontos mutációs mechanizmusa nem tisztázott. Emiatt nem vethető el annak lehetősége sem, hogy az IAM alapján futtatott statisztika eredménye helyes, ha feltételezzük, hogy a „slipped strand mispairing” mutációs mechanizmus bármilyen hosszúságú szakasz lefűződését vagy hozzátoldását eredményezheti. (Mindezt megkérdőjelezi, hogy a

mikroszatellit allélok leggyakrabban szabályos motívumokban térnek el egymástól.) A fenti megfontolások alapján a BOTTLENECK program TPM, IAM és SMM modellekre adott értékeit is közölöm. A választható tesztek közül a "Wilcoxon sign-rank test"-et (Luikart és Cornuet 1997) használtuk, amely nagy statisztikai erővel akár már 4 polimorf lókusszal képes megbízható eredményt adni (további tesztek leírását ld. 9.4 mellékletben).

A palacknyak-hatás tesztelésének alternatív módja az „L” teszt (Luikart *et al.* 1998). Ez a teszt nem statisztikus, inkább grafikus megközelítéssel az allél-gyakoriság eloszlások alakját teszteli. Méretükben stabil populációknál az allél-gyakoriságok „L” alakú eloszlást mutatnak, vagyis a kis gyakoriságú allélokból van a legtöbb az összes lókuszra nézve, ami az eloszlás „L” alakját adja. Tényleges genetikai palacknyak-hatást követően a ritka allélok tűnnek el legkönnyebben a populációból, így minden olyan eloszlás, ahol a legritkább gyakorisági kategóriákban kevesebb allél található, mint bármelyik másokban, palacknyak-hatást jelez (Williamson-Natesan 2005).

Mindkét fenti statisztikai próbát elvégeztük a maximális egyedszámmra (58 genetikailag független egyed), majd random kiválasztás alapján csökkentett populációméretre is (50, 40, 30, 20, 15, 10 és 5 egyedre). A csökkentett populációméretnél 6 független random mintát futtattunk le az eredmények konzisztenciájának megállapítására, amely ugyan szegényes megközelítése a sokszori újramintázásból megkapható statisztikai erő tesztelésének, de pillanatnyilag nem áll rendelkezésre szoftver e célra.

A palacknyak hatás heterozigóciára és allél-diverzitásra kifejtett hatását Monte Carlo mintavételezési eljárásokon alapuló szimulációval is modelleztük a GENELOSS program felhasználásával (England és Osler 2001). A szimuláció kiindulási adatait az 58 genetikailag független egyed 20 polimorf lókuszának allél-gyakorisági eloszlása szolgáltatta. A szimulációban két értéket lehet változtatni: (1) Hány költőpár szaporodjon a palacknyak-hatás során (=konstans populációméret, amely megadja a palack nyakának szélességét. Minden új generációban ugyanannyi a költőpárok száma!). A futtatásokat széles tartományban végeztük: 2, 5, 10, 20, 31, 62, 125, 250, 500 és 1000 költőpárral. (2) A másik állítható paraméter a palacknyaknak kitett generációk száma, vagyis a palack nyakának hossza. A futtatások 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 40, 60, 80 és 100 generációval történtek. Összesen tehát 120 esetre (10 különböző populációméret x 12 eltérő időtartamban) kaptunk allél-diverzitás és heterozigócia értéket, amelyet grafikusán ábrázoltunk. A Monte Carlo mintavételezés iterációs értéke 1000 volt.

4.3 Eredmények

4.3.1 Mikroszatellit primerek tesztelése

108 primer pár (a tesztelt összes primer pár 50%-a) adott specifikus terméket, míg a primerek másik fele gyenge, nem specifikus sávokat adott, esetleg egyáltalán nem is amplifikálódott gyöngybagolyban. Az amplifikálódó primerek közül 24 lókusznál (22%) találtunk kettő vagy több konzisztens, mikroszatellitokra jellemző mintázatot mutató allélt (8. táblázat). A fennmaradó 84 primer vagy monomorf, vagy nem is mikroszatellit lókuszt szaporított fel. Az eredeti 24 primerből 58 egyedre megnézve 8 lókusznál találtunk szignifikáns eltérést vagy a HWE-től, vagy nagyon magas null-allél frekvenciát: Boow19, FEPO42, Gga54f2, GgaBMATATC453, HvoB1, Tgu-Gga 13-016, Tgu-Gga 13-017, Ta215 (8. táblázat). A legutolsó, gyöngybagolyra kifejlesztett svájci primer kivételével a többi primert és a Bb111-es primer párt újraterveztük a megszekvenált darab alapján (PRIMER3 v. 0.4.0, Rozen és Skaletsky 2000).

A 24 polimorf lókusznál 2-26 allélt találtunk 56-58 tesztelt egyednél. A PIC érték (polymorphism information content) átlagosan 0,63 volt (0,33-0,94, CERVUS v2.0, Marshall *et al.* 1998). Három lókuszt tartott szignifikánsan a HWE-től (Boow19, BMATATC453 és Tgu-Gga 13-017 ($p < 0,05$) és mind a három allél magas null-allél gyakoriságot mutatott ($> 0,1$) az újratervezés ellenére is. A 24 polimorf lókuszt egyike sem mutatott ivari kromoszómához való kötődést. 13 lókuszt valószínűsített elhelyezkedését megvizsgáltuk a csirke genomon Dawson (2007) alapján (9. ábra). Ezek alapján is azt kaptuk, hogy ezek a vizsgált lókusztok nem szexkromoszómán lokalizálódnak, és csupán két lókuszt pár között volt kevesebb, mint 2 Mb a fizikai távolság, ami a fizikai kapcsoltságot valószínűsítheti (Boow19 és BMATATC453 a csirke 1., illetve Tgu-Gga13-016 és Tgu-Gga13-017 a csirke 13. kromoszómán). Ezek a lókusztok mutattak egyébként is magas null-allél arányt, így kihagyásuk annál inkább indokolt volt. Hét pár lókusznál találtunk kapcsoltságot (LE, linkage disequilibrium, $p < 0,01$ GENEPOP, Raymond és Rousset 1995); FEPO42 - FEPO43, FEPO43 - Bb111, FEPO42 - Tgu-Gga 01-058, Calex05 - 54f2, Tgu-Gga 13-016 - 54f2, Boow19 - BMATATC453 és Bb111 - Rbg18).

8. táblázat 24 gyöngybagolyra kidolgozott polimorf mikroszatellit lókuszt jellemzése

Lókuszt (zárójelben az eredeti primer név, ha eltérő)	Eredeti faj, lókuszt és primer referencia	Az eredeti faj és a gyöngybagoly NCBI száma	Mikroszatellit motivum gyb-ban	Primer szekvencia (5'→3') és primer név, ha újat terveztünk	Ta (°C)	Mg Cl ₂ (mM)	n	A	Megfigyelt allél méret (bp)	Ho	He	HWE eltérés	Becsült null-allél gyakoriság
Bb111 ♦	<i>Bubo bubo</i> , Isakson és Tegelström 2002	AF432096, EU106128	(AG)12	Bb111-Tal F: [SHEX]-CTTGTGTCAGTTTCCCTGTAGC R: ATCTAAGCATTAAAAATGCARAYCTT	53	3.0	58	8	179, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 169, 173, 175, 177	0.85	0.79	0.13	-0.04
Boow19 ♦	<i>Aegolius funereus</i> , Koopman et al. 2004	AY257177, EU106131	(T)21	Boow19-Tal F: [6-FAM]-GGAAACTTACTAGAAAAATAATGACTGG R: CTTTCTAACTTTCCCATGCAAC	56	3.0	57	4	169, 173, 175, 177	0.44	0.61	0.00	0.17
Calex-05	<i>Charadrius alexandrinus</i> , Küpper et al. 2007	AM072453, EU106130	(GT)6 (N)n CT (N)n GA (N)n (GT)16 (TG)19	F: [SHEX]-TCCAGCTGAAGTCTCCGTGAAT R: TCCACACCTGTTCCGACAGTTCAATA	56	2.0	58	5	184, 190, 192, 194, 196	0.74	0.72	0.52	-0.02
FEPO42 ♦	<i>Glaucidium brasilianum</i> , Proudfoot et al. 2005	AY730414, EU106127	(GT)16 (TG)19	FEPO42-Tal F: [6-FAM]-CGACTGCAAATCTTGGTTC R: ATACATCGAAATAAACTACTGAAAC	56	3.0	58	7	83, 85, 89, 91, 93, 99, 103	0.64	0.63	0.06	-0.00
FEPO43	<i>Glaucidium brasilianum</i> , Proudfoot et al. 2005	AY730415, EF113899	(GGAT)19 (AGAT)32	F: [6-FAM]-CGTGAAGGTAAGAGGAGCTGG R: GGAGGGAGCCTGGAAATGG	62	1.5	58	26	224-380 (24 alleles)*	0.95	0.95	0.14	-0.01
54f2 (Gga54f2) ♦	<i>Haematopus ostralegus</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus, Küpper et al. 2008	AM606079, EU106137	(GT)15	54f2 -Tal F: [SHEX]-GAGAGATGTTGGGCTCTTGTG R: TGTTAATTGCATTGAATGTCAGC	56	3.0	58	9	127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 147	0.83	0.78	0.48	-0.03
BMATATC453 (GgaBMATATC453) ♦	<i>Brachyramphus marmoratus</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus, Küpper et al. 2008	DQ173188, EU106139	(AT)4 (N)n T (N)n (A)22	BMATATC453-Tal F: [6-FAM]-TATCCACTTGGTTGCTTGC R: TCTCAATCTGTGAGATGTCTCTC	56	3.0	58	5	149, 151, 153, 155, 157	0.45	0.67	0.00	0.21

Rhg18 (GgaRhg18)	<i>Larus novaezelandiae scopulinus</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus, Küpper <i>et al.</i> 2008	AY091847, EU106138	(GT)9	F: [SHEX]-AARTTCAKAAATCTGTTCTGAAAGG R: TTCCAACCTGAGCCCTTGAC	52	2.5	58	6	263, 267, 269, 271, 273, 275	0.81	0.73	0.79	-0.01
HvoB1 ♦	<i>Halioaetus vociferoides</i> , Tingay <i>et al.</i> 2007	AM182026, EU106135	(T)14 (GT)8	HvoB1-Tal F: [SHEX]-AAGCAAGGACTTCTCTCCAG R: TCTCAAATTGGAACAGAGAAAGG	56	3.0	58	4	114, 116, 118, 120	0.53	0.61	0.05	0.05
Oe053	<i>Onus elegans botelensis</i> , Hsu <i>et al.</i> 2003	AY312424, EF113897	(TGTC)12 (TATC)10 TAATCTA ACCATC (TATC)2 (TACC)13 (TC)14	F: [6-FAM]-CTCTGCATCTTAACGCACAGGAC R: CCTCCAAGTGGACAGGAAAAGC	62	2.5	58	11	306, 326, 334, 338, 342, 346, 350, 354, 358, 362, 366	0.74	0.75	0.39	-0.01
TguEST-06	<i>Taeniopygia guttata</i> , Slate <i>et al.</i> 2007	CK307697 (contig35), EU106129	(A)19 (N)n G (N)n (A)7 (AG)7	F: [SHEX]-CGAGTAGCGTATTTGTAGCGA R: AGGAGCGGTGATTGTTCACT	58	2.0	58	5	153, 163, 165, 167, 169	0.71	0.68	0.17	-0.02
Tgu-Gga 04-061	<i>Taeniopygia guttata</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus, Dawson <i>et al.</i> nem publikált	CK235034, EU106136	(A)19 (N)n G (N)n (A)7 (AG)7	F: [SHEX]-GACAATGGCTATGAAAATAAATTAGGC R: AGAAGGGCATTGAAGCACAC	56	2.5	58	6	201, 203, 207, 209, 211, 213	0.52	0.56	0.19	0.06
Tgu-Gga 08-024	<i>Taeniopygia guttata</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus, Dawson <i>et al.</i> nem publikált	CK314428, EU106134	(AT)5 AA (N)n (AT)4 (N)n (A)11 (N)n (A)13	F: [SHEX]-CCCACAAATCCTGAATTCATATC R: ACTGGCTTATAAAGTCCATGGTTG	56	2.5	58	2	234, 236	0.43	0.43	1.0	0.03
Tgu-Gga 13-016 ♦	<i>Taeniopygia guttata</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus, Dawson <i>et al.</i> nem publikált	CK308822, EU106133	(T)12	Tgu-Gga 13-016-Tal F: [6-FAM]-GAGGCTTGATTGCTGTGATAA R: CCCCAGGCAAGTGCTAC	56	3.0	57	2	112, 114	0.46	0.49	0.59	0.03
Tgu-Gga 13-017 ♦	<i>Taeniopygia guttata</i> és <i>Gallus gallus</i> konszenzus,	CK313422, EU106132	(TA)11	Tgu-Gga 13-017-Tal F: [6-FAM]-AGGGATGTTACTCAAAGAATGTAAGG R: GGTAACCTACACATTCCAACCTCTG	56	3.0	56	3	190, 192, 194	0.30	0.47	0.01	0.22

Dawson *et al.*
nem publikált

Ta 207 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220185	(CA)8TA(C A)9	F: CAGTGCCAGGATTGGAGTT R: CAGCAGGTGAAGGAGAAGG	58	1,5	58	4	253, 255, 257, 259	0.62	0.58	0.41	-0,04
Ta 208 ♦	<i>Tyto alba</i> Nem publikált	-	(CA)20	F: AATAACGATCTCATCCAGTCAG R: AGCATTAGGGTCATAATAGGTG	56	2,0	58	11	220, 230, 234, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 254	0.79	0.85	0.24	0.03
Ta 212 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220187	(CA)13	F: AGGGCTGTGCTTCCACTC R: TGCCAAACACCATCACC	56	2,0	58	9	248, 250, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270	0.79	0.78	0.87	-0,01
Ta 214 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220188	(CA)14	F: TCTCCTTCTTCACCCATTAC R: CAGTCACCCTTTGTGTGAGTG	60	2,5	58	5	220, 222, 226, 228, 230	0.78	0.78	0.27	0,00
Ta 215 ♦	<i>Tyto alba</i> Reto <i>et al.</i> 2008	EU220189	(CA)13	F: AGGATGGGCTCAGAAATAAG R: CCAAGAAACCCAGTAGGTAG	56	2,0	58	4	293, 295, 297, 299	0.50	0.59	0.05	0,09
Ta 216 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220190	(TG)15	F: CAGGCTTCTCTGAGGTCC R: GCATTGTGAAAGGGTTTACTG	56	2,0	58	8	186, 188, 190, 192, 194, 196, 200, 220	0.79	0.71	0.61	-0,07
Ta 218 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220191	(CA)17	F: CGTTACACGCATACACACAAC R: CGATGCAACAATTATTCATGTC	56	2,5	58	5	118, 120, 122, 124, 126	0.81	0.68	0.25	-0,10
Ta 220 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220193	(CA)11	F: ACAGACGCACTGGAAGTATG R: GCATGTAACGGAAGGTTGTA	56	2,0	58	5	210, 212, 218, 220, 222	0.69	0.67	0.08	-0,01
Ta 414 ♦	<i>Tyto alba</i> Burri <i>et al.</i> 2008	EU220206	(TCCA)18C A(TCCA)T C CG(TCCA) 11CA(TCC A)9	F: CCTCTTCTTCCAGTGG R: GGTGGGGGTATTATACCTG	60	2,0	58	25	243-411 **(25 alleles)	0.86	0.95	0.11	0,04

Jelmagyarázat a 8. táblázathoz

Lókuszt referenciák azokra a primerekre, amelyeknél az eredeti lókuszt nem lett tesztelve:
54f2- van Treuren *et al.* (1999); BMATATC453 - Rew *et al.* (2006); Rbg18 - Given *et al.* (2002)

Ta, primer kötési hőmérséklet (annealing temperature);

n, genetikailag nem rokon egyedek száma;

A, allélszám;

HO, megfigyelt heterozigótia;

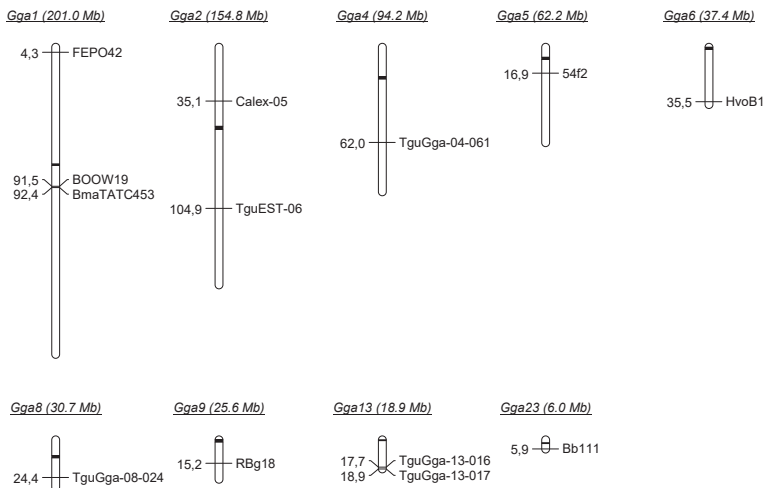
HE, várt heterozigótia;

HWE, Hardy Weinberg Egyensúly

* Allélok a FEPO43 lókusznál: 224, 244, 248, 252, 256, 260, 264, 268, 276, 280, 284, 288, 292, 296, 300, 304, 308, 312, 316, 320, 324, 336, 340, 364, 372 és 380.

**Allélok a Ta 414 lókusznál: 243, 247, 251, 255, 259, 263, 291, 295, 299, 303, 307, 311, 315, 323, 347, 355, 363, 367, 375, 379, 383, 387, 399, 403, 411

♦ Újonnan tervezett primerpár. Az új primerek az eredeti faj, a gyöngybagoly homológ, és ha elérhető volt, akkor a csirke homológ szekvenciák illesztésével kerültek megtervezésre.



9. ábra 13 gyöngybagolynál használt lókuszt feltételezett elhelyezkedése a csirke genomra illesztve. A kromoszómán elfoglalt helyeket a csirke genomra vetített homológiák alapján határoztuk meg Dawson (2007) módszerét követve. A centroméra becslést elhelyezkedését a G/C tartalom alapján kalkuláltuk ki (vastag fekete vonal a kromoszómán). (A FEPO43 és Oe053 lókusztok nem adtak homológ régiót a csirke genomon. A svájci primer készlet jelölése a jelen munkában nem lehetséges.)

4.3.2 Palacknyak-hatás vizsgálat

A „two-phased model” Wilcoxon tesztjének eredményei alapján nem lehetett palacknyak-hatást kimutatni az 58 egyedet alapul vevő populációnál ($H_c=H_{eq}$), ha az irodalomban ajánlott 90%SMM 10%IAM mutációs lépés arányt állítottuk be (9. táblázat). Az IAM arány emelésével azonban szignifikáns eredményt kapunk (9. táblázat). Az L eloszlás teszt ekkor sem mutat szignifikáns eltérést. Ha az 58 egyedből random kiválasztott kisebb populációméret alapján számolja ki a BOTTLENECK program az allél-gyakoriság eloszlásokat (90%SMM 10%IAM mutációs lépés aránynál), akkor a 6 random mintavételen elvégzett futtatások 33-50%-a szignifikáns eredményt adott 50 vagy kevesebb egyedből kiindulva ($H_c>H_{eq}$). Az allél-gyakoriság eloszlásban mutatkozó eltolódást az „L” eloszlásban a program csak a legkisebb (5 példány) populációnál jelezte konzisztensen (10. táblázat).

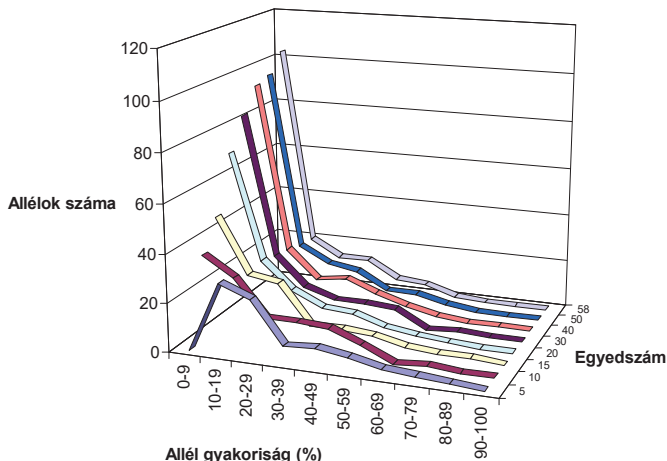
9. táblázat BOTTLENECK futtatások eredményei (egyvégi tesztek p értékei) a három mutációs modell szerint. Az SMM lépések aránya az összes mutációs lépés százalékában (SMM+IAM=100%) került megadásra. L= „L” statisztika eredménye, ahol N jelentése: normál „L” eloszlás. Szignifikáns eredmények vastagon szedve.

SMM arány	IAM	TPM	SMM	L
30%	0,00	0,00	0,44	N
50%	0,00	0,00	0,45	N
70%	0,00	0,01	0,51	N
80%	0,00	0,02	0,51	N
85%	0,00	0,03	0,51	N
90%	0,00	0,12	0,46	N

10. táblázat Wilcoxon teszt (p) és „L” eloszlás teszt (L) eredményei különböző méretű, random kiválasztott populációkon (5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 és 58 egyed) 6 független mintavételezést követő futtatásból. 90%SMM 10%IAM mutációs arány. (SM=„shifted mode”, N=normál „L” eloszlás, %p<0,05= a szignifikáns Wilcoxon teszt aránya 6 futtatásból. Szignifikáns eredmények vastagon szedve.)

	1		2		3		4		5		6		% p<0,05
	p	L	p	L	p	L	P	L	p	L	p	L	
5	0,045	SM	0,406	SM	0,082	SM	0,249	SM	0,057	SM	0,005	SM	33
10	0,038	N	0,057	N	0,273	N	0,351	N	0,123	N	0,041	N	33
15	0,071	N	0,045	N	0,008	N	0,041	N	0,249	N	0,057	N	50
20	0,364	N	0,024	N	0,002	N	0,115	N	0,174	N	0,095	N	33
30	0,580	N	0,101	N	0,011	N	0,032	N	0,071	N	0,018	N	50
40	0,077	N	0,131	N	0,041	N	0,024	N	0,049	N	0,053	N	50
50	0,057	N	0,101	N	0,101	N	0,041	N	0,035	N	0,108	N	33
58	0,077	N	0,088	N	0,088	N	0,062	N	0,095	N	0,071	N	0

Az allél-gyakoriságok eloszlásának grafikus ábrázolása is azt mutatja, hogy csak 5 egyedből kiindulva látszik jelentős hiány a ritka gyakoriságú allélok számában (10. ábra).



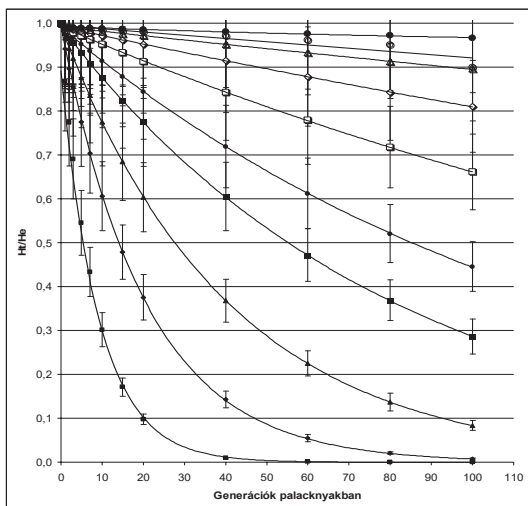
10. ábra Palacknyak-hatás szimulálása valós genetikai adatokból kiindulva. 20 polimorf lókuszt allélgyakoriság-eloszlása csökkenő (genetikailag nem rokon) egyedszámú populációval futtatva (58, 50, 40, 30, 20, 15, 10, 5 egyed). „L” alakú eloszlást várunk, ha nincs a palacknyak-hatás következtében bekövetkező veszteség a ritka allélokban (10, 15, 20, 30, 40, 50 és 58 egyedszámból kiindulva). Kis populációméretnél (5 egyedszámból kiindulva) a ritka allélok száma lecsökken, és az eloszlás vége letörik.

A GENELOSS program segítségével végzett szimuláció számszerű eredményei a 11. táblázatban láthatók. A heterozigócia csökkenés mértéke (12., 14. és 15. ábra) és az allélvesztés mértéke (13., 14. és 15. ábra) szemléletesebben ábrázolható a palacknyaknak kitett generációk függvényében. H_i/H_e a heterozigócia csökkenés mértéke, ahol H_e a kiindulási várt heterozigócia, H_i az adott méretű populáció becsült heterozigócia szintje bizonyos számú generáción keresztül palacknyak-hatásnak kitéve. Az allélszám veszteszt 1-(NoA/8,05) képlet alapján ábrázoltuk, ahol NoA az adott méretű populáció becsült allélszáma bizonyos számú palacknyak-hatásnak kitétt generációt követően, osztva a kiindulási allélszámmal (8,05). Ha a palacknyak-hatást követően 8,05 a becsült allélszám, akkor az allélszám-vesztés mértéke $[0 = 1 - (8,05/8,05)]$.

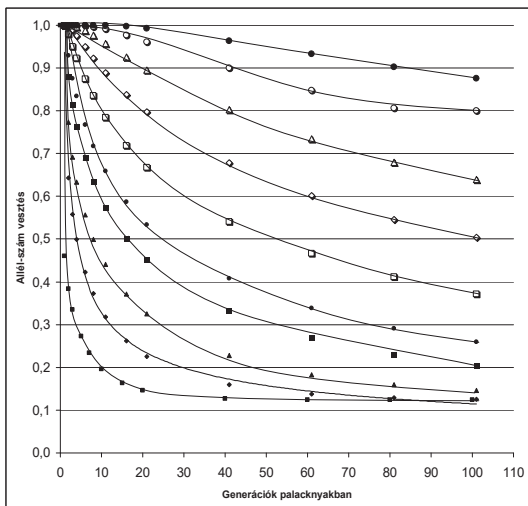
11. táblázat Heterozigócia és allélszám-vesztés mértéke. A költőpárok számát (2-től 1000-ig) és a palacknyak-hatásnak kitett generációk számát (1-től 100-ig) változtattuk a futtatások során. NoA= allélszám, He= heterozigócia, S.D. = szórás.

Generációk			Költőpárok→			2			5			10			20			31		
	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.		
1	8,05	0,71	0,13		3,70	0,61	0,11	5,17	0,67	0,12	6,23	0,68	0,13	7,08	0,69	0,13	7,48	0,70	0,13	
2					3,09	0,55	0,10	4,49	0,63	0,12	5,57	0,67	0,12	6,56	0,68	0,13	7,05	0,69	0,13	
3					2,70	0,49	0,09	4,02	0,60	0,11	5,09	0,65	0,12	6,14	0,67	0,12	6,71	0,68	0,13	
5					2,19	0,39	0,07	3,40	0,55	0,10	4,48	0,62	0,11	5,54	0,66	0,12	6,18	0,67	0,12	
7					1,88	0,31	0,06	3,00	0,50	0,09	4,02	0,59	0,11	5,10	0,64	0,12	5,78	0,66	0,12	
10					1,58	0,21	0,04	2,56	0,43	0,08	3,55	0,55	0,10	4,62	0,62	0,11	5,30	0,65	0,12	
15					1,32	0,12	0,02	2,11	0,34	0,06	2,99	0,48	0,09	4,04	0,58	0,11	4,72	0,62	0,11	
20					1,18	0,07	0,01	1,82	0,27	0,05	2,62	0,43	0,08	3,63	0,55	0,10	4,30	0,60	0,11	
40					1,02	0,01	0,00	1,29	0,10	0,02	1,84	0,26	0,05	2,67	0,43	0,08	3,28	0,51	0,09	
60					1,00	0,00	0,00	1,11	0,04	0,01	1,48	0,16	0,03	2,17	0,33	0,06	2,72	0,43	0,08	
80		1,00	0,00	0,00	1,04	0,01	0,00	1,29	0,10	0,02	1,85	0,26	0,05	2,34	0,37	0,07				
100		1,00	0,00	0,00	1,01	0,01	0,00	1,17	0,06	0,01	1,64	0,20	0,04	2,08	0,32	0,06				

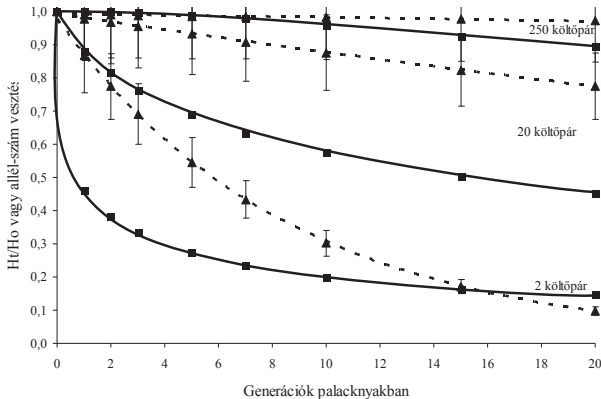
Generációk			Költőpárok→			62			125			250			500			1000		
	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.	NoA	He	S.D.		
1	8,05	0,71	0,13	7,88	0,70	0,13	8,03	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13		
2				7,64	0,70	0,13	7,96	0,70	0,13	8,04	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13		
3				7,43	0,69	0,13	7,85	0,70	0,13	8,02	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13		
5				7,04	0,69	0,13	7,65	0,69	0,13	7,95	0,70	0,13	8,04	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13		
7				6,72	0,68	0,13	7,43	0,69	0,13	7,86	0,70	0,13	8,02	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13		
10				6,32	0,67	0,12	7,16	0,69	0,13	7,71	0,69	0,13	7,98	0,70	0,13	8,05	0,70	0,13		
15				5,79	0,66	0,12	6,75	0,68	0,12	7,45	0,69	0,13	7,86	0,70	0,13	8,03	0,70	0,13		
20				5,37	0,65	0,12	6,42	0,67	0,12	7,20	0,69	0,13	7,74	0,69	0,13	7,99	0,70	0,13		
40				4,35	0,60	0,11	5,46	0,65	0,12	6,46	0,67	0,12	7,25	0,69	0,13	7,76	0,69	0,13		
60				3,75	0,55	0,10	4,84	0,62	0,11	5,91	0,66	0,12	6,82	0,68	0,12	7,51	0,69	0,13		
80	3,31	0,51	0,09	4,40	0,60	0,11	5,47	0,65	0,12	6,49	0,67	0,12	7,27	0,69	0,13					
100	2,99	0,47	0,09	4,06	0,57	0,10	5,15	0,63	0,12	6,20	0,67	0,12	7,05	0,68	0,13					



12. ábra Palacknyak-hatás szimuláció az átlagos heterozigócia-vesztésre nézve. A grafikon görbéin alulról fölfelé 2, 5, 10, 20, 31, 62, 125, 250, 500 és 1000 költőpárral történt a futtatás. A palacknyak-hatásnak kitett generációk száma: 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 40, 60, 80 és 100. A baloldali meredek görbe egy szélsőségesen intenzív, míg a felső egyenes egy diffúz palacknyak-hatás eredményét mutatja. A hibásávok a szórást ($\pm S.D.$) mutatják.



13. ábra Palacknyak-hatás szimuláció az allélszám-vesztésre nézve. A grafikon görbéin alulról fölfelé 2, 5, 10, 20, 31, 62, 125, 250, 500 és 1000 költőpárral történt a futtatás. A palacknyak-hatásnak kitett generációk száma: 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 40, 60, 80 és 100.

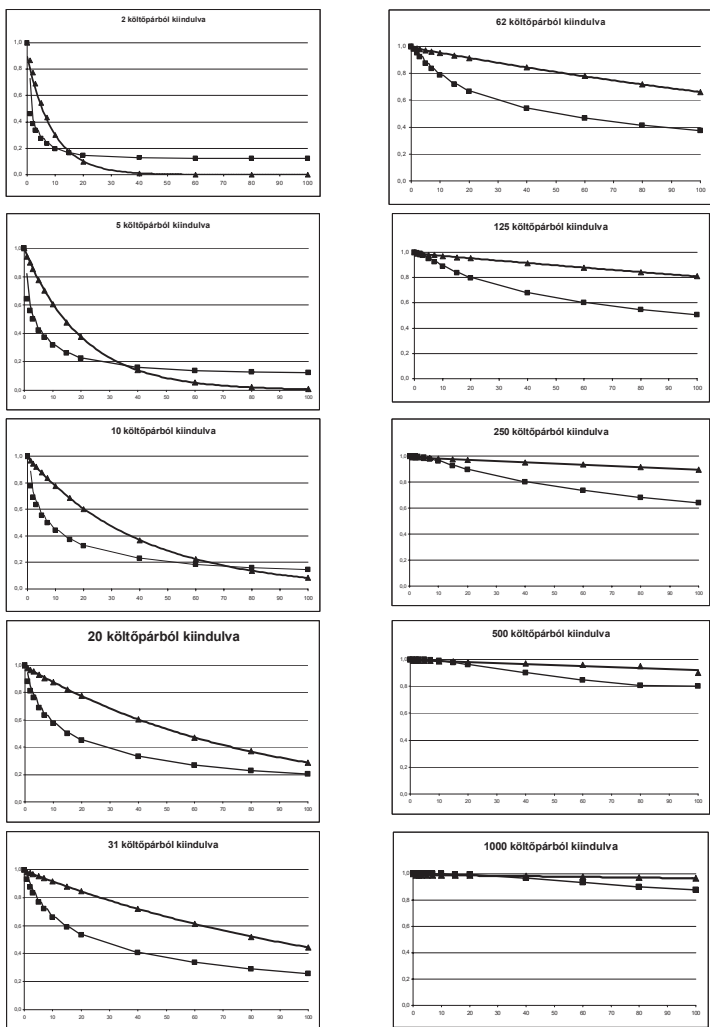


14. ábra Heterozigócia és allélszám-vesztés egymáshoz viszonyítva 2, 20 és 250 költőpár esetén 1, 2, 3, 5, 7, 10, 15 és 20 generáción keresztül tartó palacknyak-hatás alatt. Az allélszám-vesztés a folytonos vastag vonal, a heterozigócia-vesztés a szaggatott vonal (\pm S.D.). Az allélszám-vesztés a jelen gyöngybagoly-populációnál is gyorsabban következik be, mint a heterozigócia-vesztés. 250 költőpárból kiindulva még 20 palacknyakban töltött generációnál is az eredeti allélszámhoz és heterozigócia szinthez közeli értékeket kapunk.

4.4 Eredmények értékelése

4.4.1 Mikroszatellit primerek tesztelése

A polimorf mikroszatellit lókuszok alapvető populációgenetikai jellemzése során nem találtunk genetikai elszegényedésre utaló jelet. A más bagolyfajokra eddig összesen leírt 56 mikroszatellit lókusz adatait összegezve átlagosan 8,6 (3-25) allélt, 0,62 (0,043-0,94) megfigyelt (H_o), és 0,64 (0,067-0,899) várt (H_e) heterozigóciát mutattunk ki (Hsu *et al.* 2006, Hsu *et al.* 2003, Koopman *et al.* 2004, Proudfoot *et al.* 2005, Korfanta *et al.* 2002, Isaksson *et al.* 2002, Thode *et al.* 2002). Gyöngybagoly svájci és teneriféi populációjánál ugyanezek az értékek 21 lókuszra sorban: allél szám 8,72 (2-31), $H_{osvájci}$ 0,58 (0,13-0,96), $H_{esvájci}$ 0,65 (0,16-0,95), $H_{otenerifé}$ 0,54 (0,1-0,95) $H_{etenerifé}$ 0,64 (0,18-0,89) (Burri *et al.* 2008). A magyar populációban használt 20 lókusz, amely részben átfedett a svájci munkában használt készlettel a fenti eredményekhez nagyon hasonló számokat adott: átlagos allél-szám 7,5 (2-26), H_o 0,67 (0,30-0,95), H_e 0,69 (0,43-0,95). A PIC érték (Polymorphism Information Content) átlagosan 0,63 volt (0,33-0,94), amely szintén nem jelez alacsony genetikai diverzitást a hazai populációnál.



15. ábra Intenzív és diffúz palacknyak-hatás szimulálása valós gyöngybagoly allélgyakorisági adatokból kiindulva. Az intenzív palacknyak-hatás extrém kis populációméretből indul ki, fennállása néhány generációt érint, és az allél-diverzitás és heterozigotia csökkenés közötti különbség erőteljesebb (kb. 62 költőpárig). Diffúz palacknyak-hatásnál nagyobb populáció hosszabb időn keresztül van kitéve az allél-sokféleség és heterozigotia csökkenésnek, de ez utóbbiak között kevésbé erőteljes a különbség, mint intenzív palacknyak-hatás esetén (ld. pl. 250 költőpár 10 generáción át). ■ = allél-szám, ▲ = heterozigotia

Ezek az alapvető populációgenetikai mutatók ritkán elégségesek arra, hogy egy populáció genetikai diverzitását megítéljük. Egyfelől taxonspecifikus, másfelől genetikai marker specifikus, hogy hol milyen számú allélt milyen eloszlásban találunk. Így a legtöbb dolgozat az átlagos allél-számot, a H_o -t és H_e -t csupán populációk összehasonlítására használja, nem pedig abszolút mérceként (Waits *et al.* 2000, Lance *et al.* 2003, Allendorf és Luikart 2007, Fatima *et al.* 2008). A magyar populációnál mért átlagos allél-szám, H_o , H_e és PIC értékek mindegyike magasnak számít, jól illeszkednek a svájci és tenerifei populációban kapott értékekhez, és a baglyok (*Strigiformes*) rendjén belül kapott értékek is közeliek saját eredményeinkhez. Mindemellett elmondható, hogy a svájci és a tenerifei populációkban a várt heterozigóciánál alacsonyabb volt a megfigyelt, ami valószínűleg a hegyvidéki, illetve a szigeti körülményekből adódik. Az ily módon elszigetelt populációkra a szélsőségek erőteljesebben hatnak, és a regenerálódás is lassabban történik meg a szigethatás miatt. Ezek alapján tehát nincs okunk feltételezni, hogy a hazai gyöngybagoly-populáció genetikai diverzitása kirívóan alacsony lenne akár palacknyak-, akár más hatás eredményeként.

4.4.2 Palacknyak-hatás vizsgálat

A populációs palacknyak-hatás a Bottleneck programmal vizsgálva sem a Wilcoxon tesztre, sem az „L” eloszlás tesztire nem adott szignifikáns eredményt az 58 genetikailag független egyed alléloszlását vizsgálva, ha az irodalomban leggyakrabban használt IAM SMM arányt vettük alapul. Ha azonban emeltük az IAM arányt, vagyis a mikroszatellitek tekintetében megengedtük, hogy a mutációs lépések jelentős hányada bármilyen ismétlésszám-változást lehetővé tegyen, akkor a Wilcoxon teszt már 15% IAM lépésnél is szignifikáns eredményt adott (9. táblázat). A 15% IAM arány nem irreális elképzelés a mikroszatellitek mutációs mechanizmusát tekintve, mégis megállapodás szerint a szakirodalomban pillanatnyilag elterjedt alacsonyabb (10%) IAM aránnyal kapott eredményünket tekintjük mérvadónak. Ezek alapján el kell vetnünk azt a munkahipotézisünket, hogy a közelmúltban olyan populációs beszűkülésen ment át az általunk vizsgált gyöngybagoly-populáció, amely genetikai nyomot hagyott volna. Az allélszám-eloszlást az egyedszám random csökkentésével változtatva az újbóli futtatások bizonyos arányban kimutattak palacknyak-hatást. A mintaszámból eredő statisztikai gyengeséget az 58 egyedre végzett futtatások esetén biztosan elvethetjük, mivel a párhuzamosan futtatott Wilcoxon tesztek ennél az egyedszámnál konzisztens eredményt adnak kis szórással. Mivel a Wilcoxon tesztire ajánlott minimális mintaszám 15-40 egyed (Luikart és Cornuet 1997), ezért az 50-nél kisebb mintáknál tapasztalható, erősen ingadozó

Wilcoxon p értékekből csupán annyit lehet leolvasni, hogy a 6 független futtatás bizonyos hányadában (attól függően, hogy véletlenszerűen mely egyedek kerültek a csökkentett populációba) kimutatható volt palacknyak-hatás. A helyes megközelítés az ilyen szimulációkra az lenne, ha pl. 1000 újramintázásra lefuttatott szignifikáns Wilcoxon tesztek arányát adnánk meg. Erre pillanatnyilag statisztikai program nem áll rendelkezésre. Az allél-gyakoriság-eloszlásokat tekintve az látszik, hogy a csökkent mintaszámnál csökken a ritka allélok száma is, de az „L” alakú eloszlástól szignifikánsan csak egészen kis létszámú (5 példányos) populációnál tér el.

Megvizsgálva az allélsokféleség és a heterozigócia vesztes mértékét intenzív és diffúz populációs palacknyak alatt azt kapjuk, hogy 250 költőpár az az effektív populációméret (vagy genetikailag minimálisan életképes populáció), ahol 20 generáció hosszúságú palacknyak hatására az allél-és heterozigócia vesztes nem számottevő ($8,05 \rightarrow 7,2$ és $0,71 \rightarrow 0,69$). Mivel a genetikai minta 3 megye területéről származik, ezért az eredmények is e három megyére vetítve értelmezhetők elsősorban. Ha elfogadjuk, hogy a magyarországi gyöngybagolyállomány stabil években 1000 költőpár környékén mozog (Magyar *et al.* 1998), akkor Baranya, Tolna és Somogy megyékre, ahonnan a minták származtak reális becslés a 250 költőpár megléte. Baranya megye területéről állnak rendelkezésre pontos gyöngybagolyállomány adatok 1996 és 2003 között. Az ezen időszakban költőládában költő párok száma 8 és 84 között változott, a ládászámmal korrigálva ezek az értékek 14 és 84-nek adódtak (Mátics *et al.* 2008 alapján). A legutóbbi ismert zord tél, amely demográfiai palacknyak hatást eredményezett, 2002 és 2003 fordulóján állt be, amikor is a költőpárok száma 84-ről 22-re csökkent standard számú (128 db) költőládában. Ezt a majd 75%-os csökkenést a 250 költőpáros genetikailag stabil populációra vonatkoztatva azt kapjuk, hogy 62 költőpár marad egy hasonló tél után a 3 megye területén. A 62 párral elvégzett szimulációk tanúsága szerint ekkor a heterozigócia-vesztés ugyan nem drasztikus az első 20 generációban ($0,71 \rightarrow 0,65$; 9,5%-os csökkenés), de az átlagos allél-szám csökkenés már jelentős ($8,05 \rightarrow 5,37$; 33%-os csökkenés). Ugyanakkor ebben a vizsgálatban 58 genetikailag független egyedből indultunk ki (29 költőpár), és nem tudtunk genetikai palacknyak-hatást kimutatni.

Felmerül a kérdés: mi okozza azt, hogy nem találjuk genetikai lenyomatát egy meglehetősen egyértelmű és a közelmúltban intenzíven lejártszódtott állománycsökkenésnek. A fentiek alapján elképzelhető, hogy bár demográfiai szempontból a populáció egyedszáma drámaian lecsökken, de az effektív populációméretet mindez mégsem befolyásolja. Definíció szerint az effektív populációméret (N_e) az az ideális populációméret, amelyben a genetikai sodródás mértéke megegyezik a valódi populációban észlelhetőével (Allendorf és Luikart

2007). Mindez azt jelentheti, hogy 58 genetikailag nem rokon egyed képviseli azt az allélkészletet és heterozigóciaszintet, mint egy olyan populáció, amelynél a mutáció és drift egyensúlyban van. Ebből az következik, hogy ugyan a populációméret időben nem állandó, de az N_e a hazai gyöngybagoly-populációnál az erőteljes demográfiai palacknyak ellenére is csak úgy változik, hogy ennek nincsen mérhető populációgenetikai következménye.

Egy lehetséges másik magyarázat, hogy más területekről olyan erős az immigráció, hogy rövid idő alatt kompenzálja a genetikai elszegényedést. Korábbi, metapopulációs struktúrát felvázoló feltételezések támogatnák ezt a hipotézist. Eszerint a Kárpát-medencei gyöngybagolyállomány nyelő populáció, amely utánpótlást a kedvezőbb klímájú déli területekről kap (Appennini-félsziget, Balkán). Mátics (2003) vizsgálatai alapján azonban nincs kitüntetett emigrációs- és a fentiekhez hasonló immigrációs tendencia hazánkban. Elmondható, hogy több egyed vándorol ki, mint amennyi hozzánk érkezik. A külföldön jelölt és hazánkba érkezett gyöngybagolyok mind nyugati, északnyugati irányból érkeztek. Ezek száma nem túl jelentős; 91 év alatt 561 hazai visszafogási eseményből csupán 35 (6,24%) volt a más országból hozzánk érkezett madarak száma. Ismert, hogy a génáramlás a mutációnál sokkal hatékonyabban képes emelni egy populáció genetikai diverzitását, de generációnként 1-10 bevándorló (és sikeresen szaporodó) egyed kell ahhoz, hogy az elveszett genetikai sokféleséget pótolja (Mills és Allendorf 1996). Bár génáramlás történik (Mátics 2003), de a hozzánk érkezett madarak hozzájárulása a genetikai diverzitáshoz, legalábbis rövid –egy-két éves - időskálán tekintve nem kiemelkedő. Figyelembe veendő még, hogy a hozzánk érkezett madarak nagy része az állatföldrajzi értelemben viszonylag egységesnek tekinthető Kárpát-medencéből érkezett. A földrajzi barrierékkal határolt Kárpát-medencén belül a gyöngybagoly állomány feltehetően egy populációként kezelhető, és az egyedek mozgása inkább diszperziós jellegű. A fentiek alapján elvethető tehát, hogy az immigráns egyedek hatására tűnt el a 2002/2003 telén kialakult populációs palacknyak nyoma 2004/2005-re, viszont feltételezhető, hogy hosszútávon hozzájárul a genetikai változatosság fenntartásához.

A mutáció, mint allél-diverzitást növelő tényező, szintén kompenzálhatná a demográfiai beszűkülést követő genetikai elszegényedést. Ugyanakkor, bár a mikroszatellit lokuszok nagyon variábilisak és magas mutációs rátával jellemezhetők (Balloux *et al.* 2000, Sunnucks 2000), amely elsődleges a palacknyak-hatásból történő visszatérés sebességében (Allendorf és Luikart 2007), mégis valószínűtlen, hogy ilyen rövid idő alatt (1-2 generáció) képes visszapótolni az eltűnt allélokat.

A fenti két scenáriót (immigráció és mutáció szerepe) tárgyalja több olyan munka is, amelyek ismert és erőteljes demográfiai palacknyak után próbálták genetikai palacknyak-

hatást kimutatni. A skandináv országokban az európai hiúz populáció (*Lynx lynx*, Spong és Hellborg 2002) egyes becslések szerint 30 egyedből tért vissza a mai mintegy 2000 ivarérett példányra, mégsem lehetett ennek genetikai következményét kimutatni. A szerzők a mikroszatellit lókuszokat használó szoftverek gyengeségében látják az okot. Bush *et al.* (2007) az arizonai kengurupatkányokat (*Dipodomys spectabilis*) jelölés-visszafogással intenzíven vizsgálva megbízhatóan monitorozták a populáció demográfiai mutatóit. A 2002/2003-as mintegy 80%-os egyedszám csökkenés után sem lehetett egyik módszerrel sem genetikai nyomát lelni genetikai palacknyak-hatásnak. A tapasztalt eredményeket más, jelentős ciklikusságot mutató emlősfajok populációival összevetve úgy magyarázták, hogy olyan populációkban, amelyek nincsenek teljesen izolálva más állományoktól, palacknyak-hatást molekuláris adatok segítségével kimutatni kétséges.

A jelen esetben módszertani gyengeséget a saját adatainknál nincs okunk feltételezni. A használt 20 mikroszatellit lókusz számban bőven meghaladja a legtöbb tanulmányban használt mennyiséget. Nyolc frissen publikált, palacknyak-hatást elemző munka átlagosan 7,25 polimorf mikroszatellit lókuszt használt, ráadásul az általunk használt "Wilcoxon sign-rank test" nagy statisztikai erővel akár már 4 polimorf lókusszal képes megbízható eredményt adni (Luikart és Cornuet 1997). Számos vizsgálat egyszerre használja ugyanazon adatsorra az összes létező palacknyak-hatásra kifejlesztett statisztikai módszert (Lee *et al.* 2001, Spong és Hellborg 2002, Wang *et al.* 2005, Williamson-Natesan 2005, Bush *et al.* 2007). E munkák általános tanulsága, hogy mikroszatellit lókuszokra a TPM alkalmazása 10-12%-os varianciával és 90-95%-os SMM aránnyal megfelelő. Ezeken az arányokon lazítva szignifikáns eredményt kapunk ugyan, mint ahogy plusz 5% IAM arány a mi modellünkben is szignifikáns eredményt adott, de az ehhez társított magyarázatok teoretikusak mindaddig, amíg nem ismerjük a mikroszatellitek mutációs útjait. Az sem lehetetlen, hogy egyes mikroszatellit lókuszoknál más IAM/SMM arány fordul elő, mint másoknál, de ezek molekuláris háttere is teljesen feltáratlan egyelőre.

Williamson-Natesan (2005) külön vizsgálta az elsőfajú hiba (nem létező palacknyak alaptalan észlelése) és a másodfajú hiba (létező palacknyak nem észlelése) valószínűségét a különböző módszerekkel. Szimulációs futtatásaiból azt az eredményt kapta, hogy a heterozigócia túlsúlyon alapuló tesztek (pl. BOTTLENECK Wilcoxon tesztje) nagyobb érzékenységgel képesek feltárni a közelmúltban lezajlott intenzív palacknyak-hatást, ha a mutációs ráta alacsony és a palacknyak előtti populáció méret kicsi. Az allél-méretet is tekintetbe vevő Mk arány teszt (Garza és Williamson 2001), a sok generációra kiterjedő,

diffúz palacknyak-hatást tudja jobban detektálni magas mutációs rátánál és magas kiindulási populációméretnél.

Összefoglalásként elmondható, hogy a jelen vizsgálatok nem támasztják alá, hogy a demográfiai palacknyaknak genetikai hatása lenne a magyar gyöngybagoly populációban. A faj, vagy helyesebben a *guttata* alfaj fennmaradása szempontjából nem találtunk bizonyítékot erőteljes genetikai elszegényedésre. Mindazonáltal, a genetikai monitorozás (Schwartz *et al.* 2007), mint egyre reálisabb természetvédelmi megközelítés nem elvetendő módszer a gyöngybaglyok populációgenetikai stabilitásának nyomon követésére. Egy olyan fajnál, amely folyamatos természetvédelmi beavatkozástól függ, és érzékeny a téli klimatikus viszonyok megváltozására, a túlélési, reprodukciós, diszperziós és demográfiai jellemzők rövid időn belül jelentősen változhatnak. Mindezek pedig a kis populációkra jellemző genetikai elszegényedés formájában csapódhatnak le. A genetikai monitorozás egyrészt segíthet megérteni a gyöngybaglyoknál tapasztalt furcsaságot a demográfiai és a genetikai palacknyak kapcsolata között, kiegészítheti ismereteinket a gyöngybaglyok mikroevolúciójáról, másrészt időben figyelmeztethet egy kezdődő genetikai leromlásra (Schwartz *et al.* 2007).

5. Következtetések és kitekintés

Számos tanulmányban bebizonyosodott, hogy a gyöngybagoly kiváló modellszervezet nem csak egyed alatti (látás, hallás, idegrendszer vizsgálatok madaraknál), hanem egyed feletti szerveződési szintek jobb megértésében is. Földrajzi elterjedtsége, viszonylag könnyű észlelése és vizsgálata (akár mesterséges odútelepeken is) a viselkedésokológia (Roulin 1999a, 1999b, 1999c, 1999d, Roulin *et al.* 2000a, 2000b, 2001a, 2001b, Mátics *et al.* 2008), a mikroevolúció és biogeográfia területén (Mátics 2003, Mátics *et al.* 2003) folyamatosan gyarapodó publikációkkal mutatja e faj sokoldalúságát a kutatásban. A jelen dolgozat eredményei is azt sugallják, hogy a gyöngybagoly új kérdések megválaszolásában sikeres vizsgálati alany lehet a későbbiekben.

A dolgozatban tárgyalt mindhárom fejezet egy kérdés köré rendezhető: milyen tényezők és adaptációk befolyásolják a gyöngybagolyok populációdinamikáját a Kárpát-medencében? A pillanatnyi elképzelés a közép-európában jellemző kontinentális klíma alatt élő gyöngybagoly populációk dinamikájáról az, hogy természetes a nagy populációs kilengés (fluktuáció). A populációméret hirtelen lecsökkenését a szélsőséges telek és a gyöngybagolyok trópusi evolválódása során kialakult és rögzült tulajdonságai együttesen okozzák. A populáció gyors gyarapodását pedig a többi bagolyfajnál nagyobb szaporodási befektetés teszi lehetővé.

Első vizsgálatunk végkövetkeztetése az lett, hogy a költőládából kirepült fiókák első éves túlélése rosszabb, mint a máshol nevelkedett társaiké. Feltételezzük emiatt, hogy a csökkent túlélés hatással lehet a populáció gyarapodására, azáltal, hogy a belső szaporodási ráta (r) lecsökken. Vagyis a természetes populációdinamikát befolyásolja egy széles körben alkalmazott természetvédelmi módszer, a hatás mibenlétét azonban nem ismerjük. Az ok-okozati összefüggések feltárása manipulatív vizsgálatokkal valósítható meg. Fészekaljak részleges kicserélésével és a kérdéses paraméterek művi változtatásával olyan kérdésekre lehetne választ kapni, mint a parazitaterhelés, a mikroklíma, a fészekalj nagyság, a habitat minőség vagy a szülői minőség szerepe a csökkent túlélésben. Szintén lényeges vizsgálati irány lenne a szülői minőség – költőhely minőség összefüggésének kérdése. Ehhez kapcsolódó friss eredményünk, hogy a költőládákért a macskabagolyok és gyöngybagolyok között verseny folyik, amely sok esetben a macskabagoly fiókák meggyilkolásával és a ládák elfoglalásával végződik (interspecifikus infantid, Mátics *et al.* 2008). Vajon a rátermettebb gyöngybagoly pár képes-e elűzni a macskabagolyokat, vagy a kevésbé rátermetteknek kell vállalniuk ezt a kockázatos csatát? A költőládák emelkedő számával nő-e az idegen fajú fiókák meggyilkolása, növeljük-e a macskabagolyok és gyöngybagolyok közötti kompetíciós

feszültséget a költőláda kihelyezéssel? Mindez befolyásolhatja-e a két faj populációdinamikáját?

A gyöngybaglyok speciális termoadaptációja és testzsír raktározása okozza a faj nagy mortalitási rátáját egy-egy szigorú tél során. Az e kérdéseket vizsgáló endokrinológiai eredményeink sok esetben leíró jellegűek, amelyeket jól megtervezett kísérletes vizsgálatokkal érdemes lenne folytatni. Frissen publikált vizsgálatok olyan érdekességeket tártak fel a gyöngybaglyok anyagcseréjével kapcsolatban, amelyek egészen más irányú adaptációk kialakulására/rögzülésére hívják fel a figyelmet. Például mind a fiókakori maximális testtömeg, mind az adultak éhezéskor mutatott fehérje lebontása a szervezet vízháztartásának állandóságát szolgálják (Landys *et al.* 2005, Durant *et al.* 2008), amelyek inkább a vízhiány, mintsem a táplálékhiány elleni adaptációnak tekinthetők. E területen kezdetben elsősorban a zárttéri életteni vizsgálatoknak lehet komoly eredményük. Kérdés lehet a zsírraktározás és felhasználás pajzsmirigy-hormonális szabályozása, az ezzel párhuzamosan mért testhőmérséklet, a bevitt táplálék mennyisége és minőségi összetétele és ennek pajzsmirigyhormon elválasztásra kifejtett hatása. A minőségjelzés biológiájának vizsgálatához kapcsolódóan vajon van-e egyedi különbség a zsírraktározás (téli túlélés) terén a minőségjelző bélyegekhez kapcsolódóan? Ugyan nagyon hipotetikus az összefüggés, de a költőládához köthető gyengébb fiatalkori túlélés magyarázható lenne azzal, ha éppen azok a szülők foglalják el gyakrabban a költőládákat, amelyeknek a zsírraktározó és hőszabályozó képességük gyengébb. A Kárpát-medencében szélsőségesebbé váló téli időjárás méginkább próbára teheti a gyöngybagolypopulációt telente.

Végezetül érdekes kérdés a gyöngybaglyok populációs beszűkülésének genetikai konzekvenciája, illetve a vizsgált adatok alapján ennek hiánya. Mind a szélsőséges telek gyakoriságának emelkedése, mind a költőládákhoz köthető csökkent túlélés ahhoz vezethet, hogy a populációméret gyakrabban és nagyobb mértékben csökken le. A csökkenő méretű populációban előbb-utóbb megjelennek a genetikai sztochaszticitás jelei, amelynek egyik következménye a genetikai variancia lecsökkenése. Ez lassítja a populáció visszatérési sebességét, és végül egymást erősítő kihalási örvény felé sodorja a populációt. Mekkora kell, legyen az a létszámbeli csökkenés, amely már mérhető genetikai beszűkülést is okoz? Van-e összefüggés a minőségjelző bélyegek (amennyiben érvényesek egyáltalán a hazai populációnál) és az egyedek genetikai variabilitása között? Kimutatható-e genetikai elszegényedés a hajdani nagyságrendekkel nagyobb gyöngybagolypopulációból származó múzeumi tömött példányok és a recens állomány mintái között? Más genetikai markerek egybehangzó eredményt szolgáltatnak-e a mikroszatellit lokuszok alapján kapottakéval?

A fentiekben többször is említett minőségjelzés validálásához vizsgálni kellene, hogy a svájci populációra érvényesnek gondolt minőségjelző bélyegeknél ugyanaz-e a jelentésük a magyarországi populációban is. Ezt a viszonylag sok időt igénybe vevő tesztelést a jelen dolgozat vizsgálataival egy időben elkezdtük. Összesen 132 vadonélő gyöngybagolytól gyűjtöttünk 6 különböző testtájáról tollmintát, amelyek színét spektrofotométerrel határoztuk meg, mivel az egyik feltételezett minőségjelző karakter a „vörösség” mértéke (Roulin 1999a, 1999b, 1999c). Az egyedek pöttyözöttsége is fontos, így minden testtájáról 3-3 digitális fotó készült, és a pöttyök területét, számát, alakját, eloszlását digitális képelemző szoftver segítségével jellemeztük. E két karakter (színezet és pöttyözöttség) szolgál minőségjelzésre a svájci populációban is (Roulin 1999a, 1999b, 1999c, 1999d, Roulin *et al.* 2000a, 2000b, 2001a, 2001b). Az egyedek fiziológiai és genetikai minőségéhez az alábbiakat használjuk fel: minden egyedtől gyűjtöttünk vért, amelyből vérkenet készült a parazitaterheltség és a haematológiai jellemzők meghatározására. Szintén a vérből kinyert genetikai diverzitás és pajzsmirigyhormon adatok alkalmasak az egyedi minőség leírására, ivarhatározásra, és a parazitáltság PCR módszerrel történő leírására. Mindezek együttes vizsgálata egy következő dolgozat témáját jelenthetik.

6. Köszönetnyilvánítás

Mindenek előtt köszönettel tartozom témavezetőmnek, Dr. Török Jánosnak, hogy annak idején kétségeit félretéve felkarolta tématerveimet. Szakmai kritikáiból, a tudományhoz való viszonyából nagyon sokat tanultam, segítségét legelfoglaltabb óráiban sem tagadta meg. Megosztott helyen szeretnék hálás köszönetet mondani további konzulenseimnek. Dr. Mátics Róbert nélkül sosem jutottam volna el a megírás stádiumáig! Éles látása, és folyamatos biztatása sokszor kimozdított a holtpontról. Dr. Huszenicza Gyula és Dr. Kulcsár Margit az endokrinológiai témában voltak igazi pártfogóim, az elvárhatónál mindig sokkal többel segítettek és támogattak. Dr. Major Ágnes a populációgenetikai munka során volt mentorom. Munkabírása, kivételes szakmai rutinja és nagylelkűsége nélkül nem értem volna el eredményeket ezen a sok buktatóval nehezített tudományterületen. Dr. Hoffmann Gyula multidiszciplinális átlátóképességével és a biológia majd minden részterületéről származó alapos tudásával e dolgozat írása közben terelgetett a helyes ösvényre számos alkalommal.

A fenti személyek szakmai felkészültségükön túl emberségükkel és az élet különböző területein mutatott példamutatásukkal sokkal többet nyújtottak, mint tudományos témavezetést. Különösen szerencsés vagyok, hogy velük dolgozhattam!

Nagy Tibornak kiemelt köszönettel tartozom, hogy annak idején bevezetett a gyöngybagolyok világába. A dolgozat témája, a gyöngybagoly végső soron neki köszönhető, természetvédelmi szemléletemen sokat alakított. Köszönet a Gyöngybagolyvédelmi Alapítványnak és önkénteseinek! A Magyar Madártani és Természetvédelmi Egyesület Gyűrűzőközpontja készségesen rendelkezésemre bocsátotta a gyűrűzési adatokat.

Hálás szívvel sorolok fel mindenkit, aki akár csak a legkisebb segítséggel is, de önzetlen módon hozzájárult e munka megszületéséhez: Barcánfalvi Péter, Böddi Zsófia, Deborah Dawson, Fenyősy János, Gavin Horsburgh, Hegyi Gergely, Krizsik Virág, Laczi Miklós, Patricia Lee, Rosivall Balázs, Szél László, Szöllösi Eszter, Terry A. Burke, Tóth Zoltán, Tuschek Mária, Varga Sándor, Vona-Nagy Alice.

Munkámat az alábbi ösztöndíjak segítették: European Scientific Foundation Conservation Genetics (ConGen) Exchange Grant: Population genetics in Barn Owl conservation University of Wales, Swansea Ref. No. 914. Magyar Állami Eötvös Ösztöndíj Mikroszatellit lókuszok alkalmazása a gyöngybagoly (*Tyto alba*) populációgenetikában, Department of Animal and Plant Sciences, University of Sheffield, England, No. 39/2007

Végezetül hagytam családomat, akiknek e sorokban úgysem tudnám megköszönni mindazt, amivel segítettek. Mindenben segítettek!

7. A dolgozat vázát alkotó saját közlemények

- Klein, Á.,** Nagy, T., Csörgő, T., Mátics, R. 2007. Exterior nest boxes may negatively affect Barn Owl (*Tyto alba*) survival: an ecological trap. *Bird Conservation International* 17: 263-271 IF 0,745 (2007)
- Klein, Á.,** Kulcsár, M., Mátics, R., Török, J., Rudas, P., Huszenicza, Gy. 2006. Effects of environmental temperature on thyroid hormones in the Barn Owl (*Tyto alba*). *Acta Veterinaria Hungarica*, 54(3): 321-331. IF 0,474 (2007)
- Burri, R., Antoniazza, S., Siverio, F., **Klein, Á.,** Roulin, A., Fumagalli, L. 2008. Isolation and characterization of 21 microsatellite markers in the Barn Owl (*Tyto alba*). *Molecular Ecology Resource*, 8(5):977- 979. IF: 1,257 (2007)
- Klein, Á.,** Horsburgh, G.J., Küpper, C., Major, Á., Lee, P.L.M., Hoffmann, Gy., Mátics, R., Dawson, D.A. (in press). Microsatellite markers characterized in the barn owl (*Tyto alba*) and of high-utility in other owls (Strigiformes: AVES). *Molecular Ecology Resource* IF:1,257 (2007)

A dolgozathoz kapcsolódó egyéb saját közlemények

- Mátics, R., Varga, S., Oppel, B., **Klein, Á.,** Horváth, Gy., Roulin, A., Putnoki, P., Hoffmann, Gy. 2005. Partitioning of genetic (RAPD) variability among sexes on a populations of the barn owl (*Tyto alba*) in Europe. *Journal of Raptor Research* 39(2):142–148. IF 0,419 (2007)
- Mátics, R., Bank, L., Varga, S., **Klein, Á.,** Hoffmann, Gy. 2008. Interspecific offspring killing in owls. *Biological Journal of the Linnean Society* 95(3), 488-494. IF: 2,368 (2007)
- Klein, Á.,** Nagy, T., Csörgő, T., Mátics, R. 2006. Revision of Barn Owl (*Tyto alba*) Conservation in Hungary: Is Exterior Nest Box Provisioning the Most Effective Method Protecting Barn Owls? In: 1st European Congress of Conservation Biology, Eger, Hungary. Book of Abstracts, 40. (Angol nyelvű előadás kivonata)
- Klein, Á.,** Nagy, T., Csörgő, T., Mátics, R. 2003. Using ring-recapture data in Barn Owl (*Tyto alba*) conservation. In: 6th World Conference on Birds of Prey and Owls, Budapest, Abstract Volume: 3.

8. Irodalomjegyzék

- Allendorf, F.W., Luikart, G. 2007. Conservation and the genetics of populations. Blackwell Publishing, Oxford.
- Altwegg, R., Roulin, A., Kestenholz, M., Jenni, L. 2003. Variation and covariation in survival, dispersal, and population size in Barn Owls *Tyto alba*. *Journal of Animal Ecology*, 72: 391-399.
- Altwegg, R., Roulin, A., Kestenholz, M., Jenni, L. 2006. Demographic effects of extreme winter weather in the barn owl. *Oecologia*, 149: 44–51.
- Arnold, S.J. 1992. Constraints on phenotypic evolution. *The American Naturalist*, November Vol 140 Supplement: 85-107.
- Bagyura, J., Szitta, T., Haraszthy, L., Kállay, Gy., Demeter, I., Sándor, I., Dudás, M., Viszló, L. 2002. Population trend of the Saker Falcon (*Falco cherrug*) in Hungary between 1980 and 2002. 6th World Conference On Birds Of Prey And Owls, Budapest, World Working Group on Birds of Prey and Owls. Abstract Volume, 2.
- Balloux F, Brünnner H, Lugon-Moulin N, Hausser J, Goudet J. 2000. Microsatellites can be misleading: an empirical and simulation study. *Evolution*, 54(4): 1414–1422.
- Bartha, T., Rudas, P., Fekete, S., Pethes, G. 1989. Restricted feed intake influences thyroid hormone production and peripheral deiodination in chickens. *Acta Veterinaria Hungarica*, 37(3): 241-246.
- Bartholy, J., Pongrácz R., Gelybó Gy. 2007a. Regional climate change expected in Hungary for 2071-2100. *Applied Ecology and Environmental Research*, 5: 1-17.
- Bartholy, J., Pongrácz R., Gelybó Gy., Szabó P. 2007b. Expected change of temperature extremes in the Carpathian basin by the end of the 21st century. (in Hungarian) *Klíma*, 21(51): 3-17.
- Bolton, M., Medeiros, R., Hothersall, B., Campos, A. 2004. The use of artificial breeding chambers as a conservation measure for cavity-nesting procellariiform seabirds: a case study of the Madeiran storm petrel (*Oceanodroma castro*). *Biological Conservation*, 116: 73-80.
- Bowerman, W.W., Best, D.A., Grubb, T.G., Sikarskie, J.G. and Giesy, J.P. 2000. Assessment of environmental endocrine disruptors in bald eagles of the Great Lakes. *Chemosphere*, 41: 1569-1574.
- Brigmon, R.L., Besch, E.L., Mather, F.B. 1992. Seasonal temperature and its influence on

- plasma corticosterone, triiodothyronine, thyroxine, plasma protein and packed cells volume in mature male chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 102A: 289-293.
- Brito, B.H. 2005. The influence of Pleistocene glacial refugia on tawny owl genetic diversity and phylogeography in western Europe. *Molecular Ecology*, 14: 3077–3094.
- Brodkorb, P., Mourer-Chauviré, C. 1984. Fossil owls from early man sites of Olduvai Gorge, Tanzania. *Ostrich*, 54: 17-27.
- Bruce, M.D. 1999. Family Tytonidae (Barn owls). Pp. 34-75 in del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J. eds. Handbook of the Birds of the world. Vol. 5. Barn-owls to Hummingbird. Barcelona: Lynx Edicions.
- Bunn, D.S., Warburton, A.B., Wilson, R.D.S. 1982, The Barn Owl. Calton: T & AD Poyser.
- Burger, M.F., Denver, R.J. 2002. Plasma thyroid hormone concentrations in a wintering passerine bird: Their relationship to geographic variation, environmental factors, metabolic rate, and body fat. *Physiological and Biochemical Zoology*, 75(2): 187-199.
- Burri, R., Antoniazza, S., Siverio, F., Klein, Á., Roulin, A., Fumagalli, L. 2008. Isolation and characterization of 21 microsatellite markers in the Barn Owl (*Tyto alba*). *Molecular Ecology Resource*, 8(5):977- 979.
- Bush, J. D., Waser, P.M., DeWoody, J.A. 2007. Recent demographic bottlenecks are not accompanied by a genetic signature in banner-tailed kangaroo rats (*Dipodomys spectabilis*). *Molecular Ecology*, 16: 2450-2462
- Ceska, V. 1980. Untersuchungen zu Nahrungsverbrauch, Nahrungsnutzung und Energiehaushalt bei Eulen. *Jurnal für Ornithologie*, 121: 186-199.
- Chan, Y.L., Anderson, C.N.K., Hadly, E.A. 2006. Bayesian Estimation of the Timing and Severity of a Population Bottleneck from Ancient DNA. *PLoS Genetics*, 2: 451-460.
- Chastel, O., Lacroix, A., Kersten, M. 2003. Pre-breeding energy requirements: thyroid hormone, metabolism and the timing of reproduction in house sparrows *Passer domesticus*. *Journal of Avian Biology*, 34: 298-306.
- Collin, A., Buyse, J., van As, P., Darras, V.M., Malheiros, R.D., Moraes, V.M.B., Reynolds, G.E., Taouis, M., Decuypere, E. 2003. Cold-induced enhancement of avian uncoupling protein expression, heat production, and triiodothyronine concentrations in broiler chicks. *General and Comparative Endocrinology*, 130: 70-77.
- Collin, A., Cassy, S., Buyse, J., Decuypere, E., Damon, M. 2005. Potential involvement

- of mammalian and avian uncoupling proteins in the thermogenic effect of thyroid hormones. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(1): 78 – 87.
- Colvin, B.A. 1985. Common barn-owl population decline in Ohio and the relationship to agricultural trends. *Journal of Field Ornithology*, 56: 224-235.
- Cornuet J.M. and Luikart G. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics*, 144: 2001-2014.
- Coulson, T., Catchpole, E.A., Albon, S.D., Morgan, B.J.T., Pemberton, J.M., Clutton-Brock, T.H., Crawley, M.J., Grenfell, B.T. 2001. Age, sex, density, winter weather, and population crashes in Soay sheep. *Science*, 292: 1528 – 1531.
- Cramp, S. 1985. Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa, Vol. 4. Oxford: Oxford University Press.
- Cyr, D.G., Idler, D.R., Audet, C., McLeese, J.M., Eales, J.G. 1998. Effects of Long-Term Temperature Acclimation on Thyroid Hormone Deiodinase Function, Plasma Thyroid Hormone Levels, Growth, and Reproductive Status of Male Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *General and Comparative Endocrinology*, 109(1): 24-36.
- Darwin, C. 1872. A fajok eredete természetes kiválasztás útján. Typotex, Budapest 2000.
- Dawson, A., Follett, B.K., Goldsmith, A.R., Nichols, T.J. 1985. Hypothalamic gonadotrophin-releasing hormone and pituitary and plasma FSH and prolactin during photostimulation and photorefractoriness in intact and thyroidectomized starlings (*Sturnus vulgaris*). *Journal of Endocrinology*, 105: 71-77.
- Dawson, W.R., Carey, C., Van't Hof, T.J. 1992. Metabolic aspects of shivering thermogenesis in passerines during winter. *Ornis Scandinavica*, 23: 381-387.
- Dawson, A., Deeming, D.C., Dick, A.C.K., Sharp, P.J. 1996. Plasma thyroxine concentrations in farmed ostriches in relation to age, body weight, and growth hormone. *General and Comparative Endocrinology*, 103: 308-315.
- Dawson, D.A. 2007. Genomic analysis of passerine birds using conserved microsatellite loci. PhD Thesis, University of Sheffield, UK.
- Dawson, D.A., Burke, T.A., Hansson, B., Pandhal, J., Hale, M.C., Hinten, G.N., Slate, J. 2006. A predicted microsatellite map of the passerine genome based on chicken-passerine sequence homology. *Molecular Ecology*, 15: 1299-1320.
- de Bruijn, O. 1994. Population ecology and conservation of the Barn Owl *Tyto alba* in farmland habitats in Liemers and Achterhoek (The Netherlands). *Ardea*, 82: 1-109.
- De Groef, B., Vandenborne, K., Van As, P., Darras, V.M., Kühn, E.R., Decuypere, E., Gerris, K.L. 2005. Hypothalamic control of the thyroidal axis in the chicken: Over the boundaries of

- the classical hormonal axes. *Domestic Animal Endocrinology*, 29: 104-110.
- Decuyper, E., Van As, P., Van der Geyten, S., Darras, V.M. 2005. Thyroid hormone availability and activity in avian species: A review. *Domestic Animal Endocrinology*, 29: 63-77.
- Duffy, A.M.Jr, Clobert, J., Møller, A.P. 2002. Hormones, developmental plasticity and adaptation. *TREE*, 17(4): 190-196.
- Durant, J.M. 2002. The influence of hatching order on the thermoregulatory behaviour of barn owl (*Tyto alba*) nestlings. *Avian Science*, 2(3): 167-173.
- Durant, J.M., Handrich, Y. 1998. Growth and food requirement flexibility in captive chicks of the European barn owl (*Tyto alba*). *Journal of Zoology*, London, 245: 137-145.
- Durant, J.M., Massemin, S., Handrich, Y. 2004. More eggs the better: egg formation in captive barn owls (*Tyto alba*). *The Auk*, 121(1): 103-109.
- Durant, J.M., Landys, M.M., Handrich, Y. 2008. Composition of the body mass overshoot in European barn owl nestlings (*Tyto alba*): insurance against scarcity of energy or water? *Journal of Comparative Physiology B*, 178: 563-571.
- Eadie, J., Sherman, P., Semel, B. 1998. Conspecific brood parasitism, population dynamics, and the conservation of cavity-nesting birds. In *Behavioral Ecology and Conservation Biology*: 306-340. Caro, T. (Ed.). New York: Oxford University Press.
- England, P.R., Osler, G.H.R. 2001, GENELOSS: a computer program for simulating the effects of population bottlenecks on genetic diversity. *Molecular Ecology Notes*, 1: 111-113
- England, P.R., Osler, G.H.R., Woodworth, L.M., Montgomery, ME., Briscoe, D.A., Fatima, S., Bhonga, C.D., Ranka, D.N., Joshi, C.G. 2008. Genetic variability and bottleneck studies in Zalawadi, Gohilwadi and Surti goat breeds of Gujarat (India) using microsatellites. *Small Ruminant Research*, 77: 58-64.
- Fajardo, I. 2001. Monitoring non-natural mortality in the Barn Owl (*Tyto alba*), as an indicator of land use and social awareness in Spain. *Biological Conservation*, 97: 143-149.
- Fatima, S., Bhong, C.D., Rank, D.N., Joshi, C.G. 2008. Genetic variability and bottleneck studies in Zalawadi, Gohilwadi and Surti goat breeds of Gujarat (India) using microsatellites. *Small Ruminant Research*, 77: 58-64.
- Fox, G.A. 2001. Failure-time analysis studying times to events and rates at which events occur. Pp. 235-266 in S.M. Scheiner and J. Gurevitch, eds. *Design and analysis of ecological experiment*. New York: Oxford University Press.

- Frankham, R. 2003. Effects of intense versus diffuse population bottlenecks on microsatellite genetic diversity and evolutionary potential. *Conservation Genetics*, 4: 595–604.
- Frankham, R., Ballou, J.D., Briscoe, D.A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Fuerst, P.A., Maruyama, T. 1986. Considerations on the conservation of alleles and of genic heterozygosity in small managed populations. *Zoological Biology*, 5: 171–179.
- Gandolfi, F., Pocar, P., Brevini, T.A.L., Fischer, B. 2002. Impact of endocrine disrupters on ovarian function and embryonic development. *Domestic Animal Endocrinology* 23, 189-201.
- Garza, J.C., Williamson, E.G. 2001. Detecting of reduction in population size using data from Microsatellite loci. *Molecular Ecology*, 10: 305–318.
- Gil-Sánchez, J.M., Moleón, M., Otero, M., Bautista, J. 2004. A nine-year study of successful breeding in a Bonelli's eagle population in southeast Spain: a basis for conservation. *Biological Conservation*, 118: 685-694.
- Given, A.D., Mills, J.A., Baker, A.J. 2002. Isolation of polymorphic microsatellite loci from the red-billed gull (*Larus novaehollandiae scopulinus*) and amplification in related species. *Molecular Ecology Notes*, 2: 416–418.
- Glutz von Blotzheim, U. N., Bauer, K. M. 1980. Handbuch der Vögel Mitteleuropas. Volume 9. Columbiformes - Piciformes. Akademische Verlagsgesellschaft, Wiesbaden.
- Gould, S.J., Lewontin, R.C. 1979. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist program. *Proceedings of the Royal Society London B*, 205: 581-598.
- Gowaty, P.A., Bridges, W. C. 1991. Nestbox availability affects extra-pair fertilization and conspecific nest parasitism in eastern bluebirds *Sialia sialis*. *Animal Behaviour*, 41: 661-675.
- Griffith, R., Double, M.C., Orr, K., Dawson, R.J.G. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology*, 7: 1071–1075.
- Groombridge, J.J., Jones, C.G., Bruford, M.W., Nichols, R.A. 2000. 'Ghost' alleles of the Mauritius kestrel. *Nature*, 403: 616.
- Groscolas, R., Leloup, J. 1986. The endocrine control of reproduction and moult in male and female Emperor (*Aptenodytes forsteri*) and Adelie (*Pygoscelis adeliae*) Penguins. *General and Comparative Endocrinology*, 63: 264-274.
- Hagemeijer, W.J.M., Blair, M.J. 1997. The EBCC Atlas of European Breeding Birds, Their Distribution And Abundance. T & AD Poyser, London.

- Handrich, Y., Nicolas, L., LeMaho, Y. 1993a. Winter starvation in captive common barn-owls: physiological states and reversible limits. *The Auk*, 110(3): 458-469.
- Handrich, Y., Nicolas, L., LeMaho, Y. 1993b. Winter starvation in captive common barn-owls: bioenergetics during refeeding. *The Auk*, 110(3): 470-480.
- Hendry, A.P., Taylor, E.B. 2004. How much of the variation in adaptive divergence can be explained by gene flow? An evaluation using lake-stream stickleback pairs. *Evolution*, 58(10): 2319-2331.
- Hoelzel, A.R., Halley, J., O'Brien, S.J., Campagna, C., Arnborn, T., Le Boef, B., Ralls, K., Dover, G.A. 1993. Elephant seal genetic variation and the use of simulation models to investigate historical population genetics. *The Journal of Heredity*, 84: 443-449.
- Hsu, Y., Severinghaus, L.L., Lin, Y., Li, S. 2003. Isolation and characterization of microsatellite DNA markers from the Lanyu scops owl (*Otus elegans botelensis*). *Molecular Ecology Notes*, 3: 595-597.
- Hsu, Y., Li, S., Lin, Y., Severinghaus, L.L. 2006. Microsatellite loci from Lanyu scops owl (*Otus elegans botelensis*) and their cross-species application in four species of Strigidae. *Conservation Genetics*, 7: 161-165.
- Hummel, H., Sommer, A., Bogaards, R., Portner, H.O., 1997. Variation in genetic traits of the lugworm *Arenicola marina*: temperature related expression of mitochondrial allozymes? *Marine Ecology Progress Series*, 159: 189-195.
- Huszenicza, Gy., Nagy, P., Juhász, J., Kóródi, P., Kulcsár, M., Reiczigel, J., Guillaume, D., Rudas, P., Solti, L. 2000. The relationship between thyroid function and expression of seasonal reproductive activity in mares. *Journal of Reproduction and Fertility*, Supplement, 56: 163-172.
- Isaksson, M., Tegelstroem, H. 2002. Characterisation of polymorphic microsatellite markers in a captive population of eagle owl (*Bubo bubo*) used for supportive breeding. *Molecular Ecology Notes*, 2: 91-93.
- Jacob, F. 1977. Evolution and Tinkering. *Science*, 196(4296): 1161-1166.
- Jehle, G., Yackel, A.A., Savidge, J.A., Skagen, S.K. 2004. Nest survival estimation: A review of alternatives to the Mayfield Estimator. *Condor*, 106: 472-484.
- Jenni-Eiermann, S., Jenni, L., Piersma, T. 2002. Temporal uncoupling of thyroid hormones in Red Knots: T3 peaks in cold weather, T4 during moult. *Journal of Ornithology*, 143: 331-340.
- Kalbfleisch, J.D., Prentice, R.L. 1980. The statistical analysis of failure time data. New York: John Wiley.

- Kalotás, Zs. 1998. Gyöngybagoly. 211-212. In: Magyarország madarai. Szerkesztette Haraszthy László. Mezőgazda Kiadó
- Kalotás, Zs., Pintér, A. 1984. A gyöngybagoly fehér mellű alfajának (*Tyto alba alba*) fészkelése Tolna megyében. *Aquila*, 91: 17-19.
- Kingsolver, J.G., Pfennig, D.W., Servedio, M.R. 2002. Migration, local adaptation and the evolution of plasticity. *TREE*, 17(12): 540-541.
- Klein, Á. 2003. Gyöngybagoly (*Tyto alba* Scop., 1769) gyűrűzés-visszafogási adatok természetvédelmi szempontú értékelése. In: XXVI. Országos Tudományos Diákköri Konferencia Biológia szekció Összefoglalók, Szegedi Tudományegyetem, Szeged, 109.
- Klein, Á., Kulcsár, M., Mátics, R., Rudas, P., Török, J., Huszenicza, Gy. 2006. Effects of environmental temperature on thyroid hormones in the Barn Owl (*Tyto alba*). *Acta Veterinaria Hungarica*, 54(3): 321-331.
- Klein, Á., Nagy, T., Csörgő, T., Mátics, R. 2003. Using ring-recapture data in Barn Owl (*Tyto alba* Scop., 1769) conservation. 6th World Conference on Birds of Prey and Owls, Budapest, World Working Group on Birds of Prey and Owls, Abstract Volume: 3.
- Klein, Á., Nagy, T., Csörgő, T., Mátics, R. 2007. Exterior nest boxes may negatively affect Barn Owl *Tyto alba* survival: an ecological trap. *Bird Conservation International*, 17: 263-271.
- Koopman, M.E., Schable, N.A., Glenn, T.C. 2004. Development and optimization of microsatellite DNA primers for boreal owls (*Aegolius funereus*). *Molecular Ecology Notes*, 4: 376-378.
- Korfanta, N.M., Schable, N.A., Glenn, T.C. 2002. Isolation and characterization of microsatellite DNA primers in Burrowing owl (*Athene cunicularia*). *Molecular Ecology Notes*, 2: 584-585.
- König, C., Weick, F., Becking, J-H. 1999. Owls – A Guide to the Owls of the World. Mountfield: Pica Press.
- Kühn, E.R., Decuypere, E., Iqbal, A., Luysterborgh, D., Michielsen, R. 1988. Thyrotropic and peripheral activities of thyrotropin releasing hormone in the chick embryo and adult chicken. *Hormone and Metabolic Research*, 20: 158-162.
- Kühn, E.R., Geelissen, S.M.E., Van der Geyten, S., Darras, V.M. 2005. The release of growth hormone (GH): Relation to the thyrotropic-and corticotropic axis in the chicken. *Domestic Animal Endocrinology*, 29: 43-51.

- Küpper, C., Horsburgh, G.J., Dawson, D.A., Ffrench-Constant, R., Szekely, T., Burke, T. 2007. Characterization of 36 polymorphic microsatellite loci in the Kentish plover (*Charadrius alexandrinus*) including two sex-linked loci and their amplification in four other *Charadrius* species. *Molecular Ecology Notes*, 7: 35-39.
- Küpper, C., Burke, T., Szekely, T., Dawson, D.A. 2008. Enhanced cross-species utility of conserved microsatellite markers in shorebirds. *BMC Genomics*, 9(1): 502.
- Lambert, D.M., King, T., Shepherd, L.D., Livingston, A., Anderson, S., Craig, J.L. 2005. Serial population bottlenecks and genetic variation: Translocated populations of the New Zealand Saddleback (*Philesturnus carunculatus rufusater*). *Conservation Genetics*, 6: 1-14.
- Lance, S.L., Maldonado, J.E., Bocetti, C.I., Pattee, O.H., Ballou, J.D., Fleischer, R.C. 2003. Genetic variation in natural and translocated populations of the endangered Delmarva fox squirrel (*Sciurus niger cinereus*). *Conservation Genetics*, 4: 707-718.
- Landys, M.M., Piersma, T., Guglielmo, C.G., Jukema, J., Wijk, A. 2005. Water balance during real and stimulated long-distance migratory flight in the bar-tailed godwit. *Condor*, 102: 645-652.
- Laroche J., Durand, J.D. 2004. Genetic structure of fragmented populations of a threatened endemic percid of the Rhone river: *Zingel asper*. *Heredity*, 92: 329-334.
- Lee, P.L.M., Bradbury, R.B., Wilson, J.D., Flanagan, N.S., Richardson, L., Perkins, A.J., Krebs J.R. 2001. Microsatellite variation in the yellowhammer *Emberiza citrinella*: Population structure of a declining farmland bird. *Molecular Ecology*, 10(7): 1633-1644.
- Lenormand, T. 2002. Gene flow and the limits of natural selection. *TREE*, 17(4): 183-189.
- Li, P., Martin, T.E. 1991. Nest-site selection and nesting success of cavity-nesting birds in high elevation forest drainages. *The Auk*, 108: 405-418.
- Liebezeit, J.R., George, T.L. 2002. Nest predators, nest-site selection, and nesting success of the dusky flycatcher in a managed ponderosa pine forest. *Condor*, 104: 507-517.
- Lien, R.J., Siopes, T.D. 1993. The relationship of plasma thyroid hormone and prolactin concentrations to egg laying, incubation behavior, and molting by female Turkeys exposed to a one-year natural daylength cycle. *General and Comparative Endocrinology*, 90: 205-213.
- Lovász, Gy., Nagyvárad, L. 1997. A természeti környezet antropogén változása az elmúlt 1100 év alatt. In: A táj változásai a Honfoglalás óta a Kárpát-medencében. (Füleky, Gy. szerk.), Gödöllői Agrártudományi Egyetem MSZKI, - Gödöllő: 1-8.

- Luikart, G.L., Cornuet, J.M., 1997. Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology*, 12(1): 228-237.
- Luikart, G.L., Allendof, F.W., Cornuet, J. M., Sherwin, W.B. 1998. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottlenecks. *The Journal of Heredity*, 89: 238–247.
- Magyar, G., Hadarics, T., Waliczky, Z., Schmidt, A., Nagy, T., Bankovics, A. 1998. Nomenclator Avium Hungariae – Magyarország Madarainak Névjegyzéke, Winter Fair, -Budapest-Szeged
- Malheiros, R.D., Moraes, V.M.B., Collin, A., Janssens, G.P.J., Decuypere, E., Buyse, J. 2003. Dietary macronutrients, endocrine functioning and intermediary metabolism in broiler chickens, pair wise substitutions between protein, fat and carbohydrate. *Nutrition Research*, 23: 567-578.
- Mänd, R., Tilgar, V., Löhmus, A., Leivits, A. 2005. Providing nest boxes for hole-nesting birds – Does habitat matter? *Biodiversity and Conservation*, 14(8): 1823-1840.
- Marsden, S.J., Jones, M.J. 1997. The nesting requirements of the parrots and hornbill of Sumba, Indonesia. *Biological Conservation*, 82: 279-287.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B., Pemberton, J.M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 7: 639-655.
- Marti, C. D. 1999. Natal and breeding dispersal in barn owls. *Journal of Raptor Research*, 33: 181-189.
- Massemin, S., Groscolas, R., Handrich, Y. 1997. Body composition of the European barn owl during the nonbreeding period. *Condor*, 99: 789-797.
- Mátics, R. 2000. Mortality of the Barn Owl in Hungary based on the ringing data. *Aquila*, 105-106: 125-133.
- Mátics, R. 2003. Direction and movements in Hungarian Barn Owls (*Tyto alba*): gene flow and barriers. *Diversity and Distributions*, 9(4): 261-268.
- Mátics, R. 2004. A gyöngybagoly (*Tyto alba*) természetes és nem természetes mortalitása: nő az utakon történő pusztulás jelentősége. *Természetvédelmi Közlemények*, 11: 517-524.
- Mátics, R., Hoffmann, Gy., Nagy, T., Roulin, A. 2002. Random pairing with respect to plumage colouration in Hungarian Barn Owls. *Journal of Ornithology*, 143: 493-495.
- Mátics, R., Hoffmann, Gy., Roulin, A. 2003. Partitioning of the genetic variability in European populations of the barn owl (*Tyto alba*). *Journal of Ornithology*, 144: 242.

- Mátics, R., Hoffmann, Gy., Varga, S., Klein, Á., Bank, L. 2008. Interspecific offspring killing in owls. *Biological Journal of the Linnean Society*, 95(3): 488-494.
- Maynard Smith, J., Burian, R., Kauffman, S., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B., Lande, R., Raup, D., Wolpert, L. 1985. Developmental constraints and evolution. *The Quarterly Review of Biology*, 60(3): 265-287.
- McCafferty, D.J., Moncrieff, J.B., Taylor, I.R. 1997a. The effect of wind speed and wetting on thermal resistance of the barn owl (*Tyto alba*). I: Total heat loss, boundary layer and total resistance. *Journal of Thermal Biology*, 22(4/5): 253-264.
- McCafferty, D.J., Moncrieff, J.B., Taylor, I.R. 1997b. The effect of wind speed and wetting on thermal resistance of the barn owl (*Tyto alba*). II: Coat resistance. *Journal of Thermal Biology*, 22(4/5): 265-273.
- McCafferty, D.J., Moncrieff, J.B., Taylor, I.R., Boddie, G.F. 1998. The use of IR thermography to measure the radiative temperature and heat loss of a barn owl (*Tyto alba*). *Journal of Thermal Biology*, 23(5): 311-318.
- McCafferty, D.J., Moncrieff, J.B., Taylor, I.R. 2001. How much energy do barn owls (*Tyto alba*) save by roosting? *Journal of Thermal Biology*, 26: 193-203.
- McNabb, F.M.A. 2006. Avian thyroid development and adaptive plasticity. *General and Comparative Endocrinology*, 147: 93-101.
- McNabb, F.M.A., Scanes, C.G., Zeman, M. 1998. Endocrine Control of Development Pp. 174-193. In: Avian Growth and Development. Eds. J.M. Starck and R.E. Ricklefs. Oxford University Press, New York
- McNichols, M.J., McNabb, F.M.A. 1988. Development of thyroid function and its pituitary control in embryonic and hatching precocial Japanese quail and altricial Ring doves. *General and Comparative Endocrinology*, 69: 109-118.
- Mebs, T., Scherzinger, W. 2000. Die Eulen Europas. Stuttgart: Franckh-Kosmos Verlags.
- Menotti-Raymond, M., O'Brien, S.J. 1993. Dating the genetic bottleneck of the African Cheetah. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90: 3172-3176.
- Mikkola, H. 1983. Owls of Europe. London: T & AD Poyser.
- Mills, L.S., Allendorf, F.W. 1996. The One-Migrant-per-Generation Rule in Conservation and Management. *Conservation Biology*, 10(6): 1509-1518.
- MME (2001): Beszámoló az MME Ragadozómadár-Védelmi Szakosztályának 5 éves tevékenységéről 1996 november és 2001 november közötti időszakban, - MME
- Møller, A.P. 1989. Parasites, predators and nest boxes: facts and artefacts in nest box studies of birds? *Oikos*, 56: 421-423.

- Møller, A.P. és Legendre, S. 2000. Allee effect, sexual selection and demographic stochasticity. *Oikos*, 92: 27-34.
- Moraes, V.M.B., Malheiros, R.D., Bruggeman, V., Collin, A., Tona, K., Van As, P., Onagbesan, O.M., Buyse, J., Decuypere, E., Macari, M. 2003. Effect of thermal conditioning during embryonic development on aspects of physiological responses of broilers to heat stress. *Journal of Thermal Biology*, 28: 133-140.
- Moraes, V.M.B., Malheiros, R.D., Bruggeman, V., Collin, A., Tona, K., Van As, P., Onagbesan, O.M., Buyse, J., Decuypere, E., Macari, M. 2004. The effect of timing of thermal conditioning during incubation on embryo physiological parameters and its relationship to thermotolerance in adult broiler chickens. *Journal of Thermal Biology*, 29: 55-61.
- Nagy, S. 1998. Gyöngybagoly-védelmi program. *Madártávtlat*, 2: 5-6.
- Nagy, T. 1998a. Gyöngybaglyok a Kárpát-medencében – Diplomadolgozat, Gödöllői Agrártudományi Egyetem Mezőgazdasági Főiskolai Kar, Gyöngyös
- Nagy, T. 1998b. Néhány adat a gyöngybagoly (*Tyto alba*) világos mellű változatának elterjedéséhez. *Aquila*, 103-104: 129-131.
- Nagy, T. 2001. Gyöngybagolyvédelem – Diplomadolgozat, Veszprémi Egyetem, Mezőgazdaságtudományi Kar, Keszthely
- Nei, M., Maruyama, T., Chakraborty, R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29: 1–10.
- Newton, I. 1994. The role of nest sites in limiting the numbers of hole-nesting birds: a review. *Biological Conservation*, 70: 265-276.
- Nicholas, K.B., Nicholas, H.B. Jr., Deerfield, D.W. 1997. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. *EMBNEW.NEWS*, 4:14.
- Nicholls, J.A., Double, M.C., Rowell, D.M., Magrath, R.D. 2000. The evolution of cooperative and pair breeding in thornbills *Acanthiza* (Pardalotidae). *Journal of Avian Biology*, 31: 165-176.
- Nur, N., Holmes, A.L., Geupel, G.R. 2004. Use of survival time analysis to analyze nesting success in birds: an example using loggerhead shrikes. *Condor*, 106: 457-471.
- O'Brien, S.J. 1994. Genetic and phylogenetic analyses of endangered species. *Annual Review of Genetics*, 28: 467–489.
- Oki, C., Atkinson, S. 2004. Diurnal patterns of cortisol and thyroid hormones in the Harbor seal (*Phoca vitulina*) during summer and winter seasons. *General and Comparative Endocrinology*, 136: 289-297.

- Olson, J.M., McNabb, F.M.A., Jablonski, M.S., Ferris, D.V. 1999. Thyroid Development in Relation to the Development of Endothermy in the Red-Winged Blackbird (*Agelaius phoeniceus*). *General and Comparative Endocrinology*, 116: 204-212.
- Ottinger, M.A., Abdelnabi, M.A., Henry, P., McGary, S., Thompson, N., Wu, J.M. 2001. Neuroendocrine and behavioural implications of endocrine disrupting chemicals in quail. *Hormones and Behavior*, 40: 234-247.
- Pant, K., Chandola-Saklani, A. 1995. T3 fails to mimic certain effects of T4 in munia birds: physiological implications for seasonal timing. *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 111(2): 157-164.
- Paredes, R., Zavalaga, C.B. 2001. Nesting sites and nest types as important factors for the conservation of Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*). *Biological Conservation*, 100: 199-205.
- Pecsenye, K. 2006. Populációgenetika. Pars Kft., Nagykovács
- Pell, A.S., Tidemann, C.R. 1997. The impact of two exotic hollow-nesting birds on two native parrots in savannah and woodland in Eastern Australia. *Biological Conservation*, 79: 145-153.
- Piechocki, R. 1960. Über die winterverluste der Schleiereule (*Tyto alba*). *Vogelwarte*, 20: 274-280.
- Pigliucci, M., Kaplan, J. 2000. The fall and rise of Dr Pangloss: adaptationism and the Spandrels paper 20 years later. *TREE*, 15(2): 66-70.
- Piry, S., Luikart, G., Cornuet, J.M. 1999. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data. *The Journal of Heredity*, 90: 502-503.
- Pörtner, H.O. 2002. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 132: 739-761.
- Proudfoot, G., Honeycutt, R., Douglas, S.R. 2005. Development and characterization of microsatellite DNA primers for ferruginous pygmy-owls (*Glaucidium brasilianum*). *Molecular Ecology Notes*, 5: 90-92.
- Raimbault, S., Dridi, S., Denjean, F., Lachuer, J., Couplan, E., Bouillaud, F., Bordas, A., Duchamp, C., Taouis, M., Ricquier, D. 2001. An uncoupling protein homologue putatively involved in facultative muscle thermogenesis in birds. *Biochemical Journal*, 1; 353(3): 441-444.
- Raymond, M., Rousset, F. 1995. Genepop (Version 1.2) Population genetics software for

- exact tests and ecumenism. (<ftp://ftp.cefe.cnrs-mop.fr/genepop/>). *The Journal of Heredity*, 86: 248-249.
- Redeker, S., Andersen, L.W., Pertoldi, C., Madsen, A.B., Jensen, T.S., Jørgensen, J.M. 2006. Genetic structure, habitat fragmentation and bottlenecks in Danish bank voles (*Clethrionomys glareolus*). *Mammalian Biology*, 71(3): 144-158.
- Reich, D.R., Feldman, M.W., Goldstein, D.B. 1999. Statistical properties of two tests that use multilocus data sets to detect population expansions. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 453-466.
- Renner, M., Davis, L. 2001. Survival analysis of Little Penguin (*Eudyptula minor*) chicks on Motura Island, New Zealand. *Ibis*, 143: 369-379.
- Rew, M.B., Peery, M.Z., Beissinger, S.R., Berube, M., Lozier, J.D., Rubidge, E.M., Palsbøll, P.J. 2006. Cloning and characterization of 29 tetranucleotide and two dinucleotide polymorphic microsatellite loci from the endangered marbled murrelet (*Brachyramphus marmoratus*). *Molecular Ecology Notes*, 6: 241-244.
- Rosivall, B., Török, J., Hasselquist, D., Bensch, S. 2004. Brood sex ratio adjustment in collared flycatchers (*Ficedula albicollis*): results differ between populations. *Behaviour Ecology and Sociobiology*, 56: 346-351.
- Roulin, A. 1999a. Natural and experimental nest-switching in Barn Owl (*Tyto alba*) fledglings. *Ardea*, 87: 237-246.
- Roulin, A. 1999b. Delayed maturation of plumage coloration and plumage spottedness in the barn owl (*Tyto alba*). *Journal für Ornithologie*, 140: 193-197.
- Roulin, A. 1999c. Nonrandom pairing by male barn owls (*Tyto alba*) with respect to a female plumage trait. *Behavioral Ecology*, 10: 688-695.
- Roulin, A. 1999d. Natural and experimental nest-switching in Barn Owl (*Tyto alba*) fledglings. *Ardea*, 87(2): 237-246.
- Roulin, A., Ducrest, A.L., Dijkstra, C. 1999. Effect of brood size manipulations on parents and offspring in the barn owl (*Tyto alba*). *Ardea*, 87(1): 91-100.
- Roulin, A., Jungi, T.W., Pfister, H., Dijkstra, C. 2000a. Female barn owls (*Tyto alba*) advertise good genes. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 267: 937-941.
- Roulin, A., Kolliker, M., Richner, H. 2000b. Barn owl (*Tyto alba*) siblings vocally negotiate resources. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 267: 459-463.
- Roulin, A., Dijkstra, C., Riols, C., Ducrest, A.L. 2001a. Female- and male-specific signals of quality in the barn owl. *Journal of Evolutionary Biology*, 14: 255-266.
- Roulin, A., Riols, C., Dijkstra, C., Ducrest, A.L. 2001b Female plumage spottiness signals

- parasite resistance in the barn owl (*Tyto alba*). *Behavioral Ecology*, 12: 103-110.
- Rozen, S., Skaletsky, H.J. 2000. Primer3 on the www for general users and for biologist programmers. In: Krawetz, S., Misener, S. (eds). *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365-386.
- Rudas, P. 1994. A pajzsmirigyhormonok metabolizmusának és dehidációjának szerepe háziállatokban. Akadémia Doktori Értekezés, Budapest.
- Schlaepfer, M.A., Runge, M.C., Sherman, P.W. 2002. Ecological and evolutionary traps. *TREE*, 17: 474-480.
- Schmidt, E. (1985): Legkedvesebb madaraink 9., Gyöngybagoly, az MME kiadványa
- Schwartz, M.K., Luikart, G., Waples, R.S. 2007. Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *TREE*, 22(1): 25-33.
- Scollon, E.J., Carr, J.A., Cobb, G.P. 2004. The effect of flight, fasting and p,p'-DDT in thyroid hormones and corticosterone in Gambel's white-crowned sparrow (*Zonotrichia leucophrys gambelli*). *Comparative Biochemistry and Physiology C*, 137: 179-189.
- Seger, J., Stubblefield, J.W. 1996. Optimization and Adaptation. In: Rose, M.R., Lauder, G.V. (eds). *Adaptation*. Academic Press
- Shawyer, C.R. 1987. *The Barn Owl In The British Isles*. London: The Hawk Trust.
- Silverin, B., Rudas, P. 1996. Thyroid hormones in Nestling Great Tits (*Parus major*). *General and Comparative Endocrinology*, 103: 138-141.
- Slate, J., Hale, M.C., Birkhead, T.R. 2007. Simple sequence repeats in zebra finch (*Taeniopygia guttata*) expressed sequence tags: a new resource for evolutionary genetic studies of passerines. *BMC Genomics*, 8: 52.
- Somogyi, Z. (2000): A természetközeli erdőgazdálkodás fogalma és főbb alapelvei. In: *Természet-Erdő-Gazdálkodás* (Frank, T. szerk.). Garamond Kft, Eger, 13-25.
- Spong, G., Hellborg, L. 2002. A Near-extinction Event in Lynx: Do Microsatellite Data Tell the Tale? *Conservation Ecology*, 6(1): 15-20.
- Standovár, T., Primack, R. 2001. *A természetvédelmi biológia alapjai – Nemzeti Tankönyvkiadó Rt. – Budapest*
- StatSoft, 2006. STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *TREE*, 15(5): 199-203.
- Taylor, I. 1994. *Barn Owls: predator-prey relationships and conservation*. Cambridge University Press, Cambridge
- Thode, A.B., Maltbie, M., Hansen, L.A., Green, L.D., Longmire, J.L. 2002. Microsatellite

- markers for the Mexican spotted owl (*Strix occidentalis lucida*). *Molecular Ecology Notes*, 2: 446-448.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.J. 1997. The Clustal_X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acid Research*, 24: 4876-4882.
- Thouzeau, C., Robin, J.-P., Le Maho, Y., Handrich, Y. 1999. Body reserve dynamics and energetics of barn owls during fasting in the cold. *Journal of Comparative Physiology B*, 169(8): 612-620.
- Tingay, R.E., Dawson, D.A., Pandhal, J., Clarke, M.L., David, V.A., Hailer, F., Culver, M. 2007. Isolation of 22 new *Haliaeetus* microsatellite loci and their characterization in the critically endangered Madagascar fish-eagle (*Haliaeetus vociferoides*) and three other *Haliaeetus* eagle species. *Molecular Ecology Notes*, 7: 711-715.
- Toms, M. 1998. Project Barn Owl – nearing completion. *BTO News* January-February, 214.
- Van der Geyten, S., Van Rompaey, E., Sanders, J.P., Visser, T.J., Kühn, E.R., Darras, V.M. 1999. Regulation of thyroid hormone metabolism during fasting and refeeding in chicken. *General and Comparative Endocrinology*, 116: 272-280.
- van Treuren, R., Bijlsma, R., Tinbergen, J.M., Heg, D., van de Zande, L. 1999. Genetic analysis of the population structure of socially organized oystercatchers (*Haematopus ostralegus*) using microsatellites. *Molecular Ecology*, 8: 181-187.
- Vilka, I. 2003. On the importance of nest box age in monitoring populations of small hole-nesting birds. *Ornis Hungarica*, 12-13: 229-236.
- Voorrips, R.E., 2002. MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity*, 93(1): 77-78.
- Voous, K. H. (1950): On the distributional and genetical origin of the intermediate populations of the Barn owl in Europe. *Syllogomena biologica*. Akademische Verlagsgesellschaft.
- Voous, K. H. (1988): *Owls of the northern hemisphere*. W. Collins Sons & Co. London.
- Waits, L., Taberlet, P., Swensson, J.E., Sandegren, F., Franzén, R. 2000. Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*). *Molecular Ecology*, 9(4): 421-431.
- Wang, Y., Williams, D.A., Gaines, M.S. 2005. Evidence for a recent genetic bottleneck in the endangered Florida Keys silver rice rat (*Oryzomys argentatus*) revealed by microsatellite DNA analyses. *Conservation Genetics*, 6(4) 575-585.
- White, G.C., Burnham, K.P. 1999. Program MARK: survival estimation from populations of

- marked animals. *Bird Study*, 46: 120-139.
- Williamson-Natesan, E. G. 2005. Comparison of methods for detecting bottlenecks from microsatellite loci. *Conservation Genetics*, 6: 551–562.
- Wilmer, P., Stone, G., Johnston, I. 2005. Environmental physiology of animals. Blackwell Publishing, Suffolk
- Wilson, R.T., Wilson, M.P., Durkin, J.W. 1987. Growth of nestling Barn Owls (*Tyto alba*) in central Mali. *Ibis*, 129: 305-318.
- Wingfield, J.C., Hahn, T.P., Maney, D.L., Schoech, S.J., Wada, M., Morton, M.L. 2003. Effects of temperature on photoperiodically induced reproductive development, circulating plasma luteinizing hormone and thyroid hormones, body mass, fat deposition and molt in mountain white-crowned sparrows (*Zonotrichia leucophrys oriantha*). *General and Comparative Endocrinology*, 131: 143-158.
- Xia, J., Zhenga, J., Wang, D. 2005. Ex situ conservation status of an endangered Yangtze finless porpoise population (*Neophocaena phocaenoides asiaorientalis*) as measured from microsatellites and mtDNA diversity. *Journal of Marine Science*, 62(8): 1711-1716.
- Zala, S.M., Penn, D.J. 2004. Abnormal behaviours induced by chemical pollution: a review of the evidence and new challenges. *Animal Behaviour*, 68: 649-664.
- Zar, J.H. 1974. Biostatistical Analysis. London: Prentice-Hall International.

Hivatkozott weboldalak:

CITES II. függelék: www.cites.org/eng/app/appendices.shtml, 2008.05.25.

IUCN Vörös Lista: www.iucnredlist.org/search/details.php/48495/summ, 2008.05.25.

BIRDMARKER adatbázis: www.shef.ac.uk/misc/groups/molecol/deborah-dawson-birdmarkers.html, 2008.06.01.

Gyöngybagolyvédelmi Alapítvány honlapja: www.gyongybagoly.hu

FinchTV: www.geospiza.com/finchtv.html

9. Mellékletek

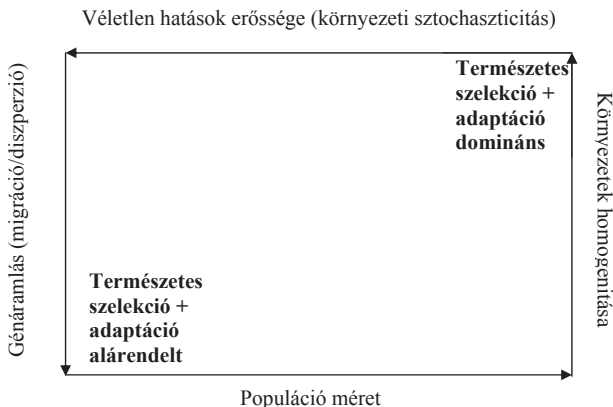
9.1 melléklet az evolúciós mechanizmusokról

Darwin (1872) az evolúciós erők legfontosabbikaként a természetes szelekció által hajtott adaptációt ismerteti A fajok eredete c. művében. Fontos azonban kiemelni, hogy csupán fontosságbeli minősítést, és nem kizárólagosságot fogalmaz meg munkájában. Kampis György új „Fajok eredete”-fordításában külön kiemeli a bevezetőben azokat a fejezeteket, amelyekben Darwin, korát több évtizeddel megelőzve, szót ejt egyedfejlődési kényszerekről, kapcsolt változásokról (allometria), kapcsolt tulajdonságokról, és a véletlen szerepéről. Az adaptáción és szelekción kívül a Gould és Lewontin (1979) által is hangsúlyozott egyéb evolúciós mechanizmusok (főként kényszerek) figyelembe vétele lényeges tehát akkor, amikor a környezeti hatótényezőkre adott válaszokat vizsgáljuk. Összességében elfogadható az a kiegyensúlyozott álláspont, miszerint minden evolúciós ökológiai magyarázatnál törekedni kell a pluralisztikus darwini megközelítésre (Arnold 1992, Pigliucci és Kaplan 2000). Ez abból áll, hogy az adaptációs magyarázatok mellett figyelembe kell venni az evolúciós kényszerek szerepét, a véletlen működését (tinkering „őszeresi toldozgatás”, Jacob 1977) és a szelekciós mechanizmusok korlátait. E három mechanizmust és a környezeti sztochaszticitást összekapcsolva kirajzolható egy kép, ahol az adaptációs-szelekciós evolúciós erők dominánsak vagy kevésbé meghatározók (16. ábra). Ez utóbbi eset azért különösen lényeges, mert felismerésével elkerülhetjük a mesterkélt adaptációs belemagyarázás „vétségét” olyan esetekben, amikor nem elsősorban adaptációs mechanizmusok alakítják ki a vizsgált mintázatot.

A populációméret és a véletlen folyamatok hatásának erőssége között negatív összefüggés látszik (16. ábra vízszintes tengelyek), vagyis minél nagyobb a populációméret, annál kevésbé drasztikus a véletlen események hatása (kis populációk érzékenysége). Ehhez kapcsolódó jelenségek a drift (genetikai sodródás) és az immigráción keresztül történő alapító hatás, amely kis populációknál erőteljes hatást fejt ki az allélgyakoriságokra (16. ábra bal oldali függőleges tengely). Kis populációknál e két jelenség a lokális adaptációk fixálódása ellen menetel, vagyis mindez korlát lehet a természetes szelekción (Lenormand 2002). A migráció mértékén kívül a lokalitások heterogenitásától is függ ez a hatás (16. ábra jobb oldali függőleges tengely, Kingsolver *et al.* 2002). Amennyiben a migráció/diszperzió foka egy küszöbérték fölé emelkedik, és a területi heterogenitás magas (tehát sokféle, az eredetétől nagyban eltérő környezetbe érkehetnek a migráló/diszpergáló egyedek, pl. növényi propagulumok), abban az esetben nem a lokális viszonyokhoz adaptálódott genotípusok

lesznek a preferáltak, hanem azok, amelyek nagyfokú fenotípusos plaszticitásra képesek. Tehát a véletlen, mint a szelekciótól eltérő evolúciós alakító erő kis populációméretnél uralkodó mechanizmussá válhat. A génáramlásról tudjuk, hogy heterogén környezeti foltokban az adaptív szétválás ellen hat, illetve parapatrikus populációkban (szintén környezeti heterogenitást feltételez) is korlát az adaptáción (Hendry és Taylor 2004). A 16. ábrán tehát néhány populációs és környezeti tulajdonság kijelöli azokat az eseteket, amikor a természetes szelekció által hajtott adaptáció a domináns evolúciós mozgatórugó, illetve azokat a helyeket, ahol a véletlen önmagában, vagy a véletlen és a génáramlás heterogén környezetben válik uralkodó mechanizmussá.

Ennek a látszólag elméleti megközelítésnek a dolgozat szempontjából vannak gyakorlati alkalmazásai is. Egy alacsony populációmérettel jellemezhető gyöngybagoly populációra a véletlen környezeti hatások (pl. kedvezőtlen esős időszak költési szezonban) erőteljesen hatnak azáltal, hogy a felnövekvő generációt méginkább megtizedelik, s egy ilyen kis populációba érkező egyedek (génáramlás) a lokális viszonyokhoz adaptálódott allélkészletet alaposan megváltoztatják (alapító hatás). A génáramlás és a populáció genetikai készletének gyors változása gyöngybagoly esetén szabad szemmel is követhető folyamat. A nyugat-európai populációból hozzánk érkező egyedek a fehérmellű alfajhoz (*Tyto alba alba* Scop., 1769) tartoznak. Az ilyen példányok megjelenése a hazai, alapvetően rozsdás mellű példányok (*Tyto alba guttata* Brehm, 1831) között feltűnő és egyre gyakrabban észlelhető. Az első adatok a 70-es évekből származnak (Kalotás és Pintér 1984), majd egyre több adat látott napvilágot (Nagy 1998b). Manapság meg sem lepődünk, ha egy tiszta *alba* alfajhoz tartozó egyeddel találkozunk. A hazai populációval történő keveredésük – így a génkészlet megváltoztatása - az átmeneti színű utódok (hibridek) megjelenésével olvasható le (Mátics *et al.* 2002). A génáramlás genetikai (RAPD) módszerrel is bizonyítást nyert: a svájci és a magyar populáció között az egy generációra eső migránsok száma körülbelül 1 (Mátics *et al.* 2003). A génáramlás e két populáció között alacsony szintű, de a gyűrűzési adatokat vizsgálva a többi hozzánk érkező madár is többnyire Nyugat-Európából érkezett (Mátics 2003). A 16. ábrán szemléltetett modell tehát jól illeszkedik a hazai gyöngybagolyállomány dinamikájához.

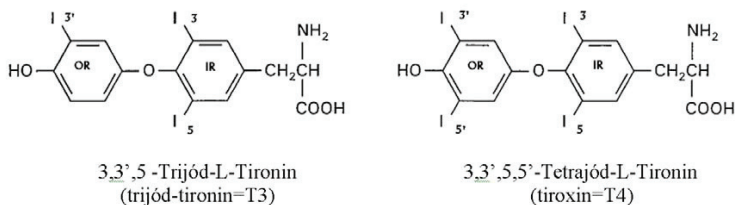


16. ábra A természetes szelekció és adaptáció dominanciája. Nagy populációméretnél a véletlen szerepe elhanyagolható. Ugyanakkor a génáramlás szerepe is csak heterogén környezeti foltok között hat az adaptív szétválás és fixálódás ellen.

Az evolúciós mechanizmusok sorába tartozó kényszerek bővebb tárgyalásától eltekintve itt csupán a dolgozat szempontjából lényeges vonásokat definiáljuk. Ha az evolúciót egyszerűen fenotípusos állapotátmenetekkel (tranzíciókkal) szemléltetjük, akkor elvi esély van arra, hogy egy kiindulási fenotípus bármely másik fenotípussá alakuljon. Ez a térben egy végtelen pontból álló halmazt jelent, ahol bármely pontból egy lépéssel átjuthatunk bármely másikba. A valóságban azonban ezt a végtelenszámú pontthalmazt leszűkítik a kényszerek egy kisebb, de még mindig végtelen számú részhalmazra, amelyek ténylegesen megvalósulhatnak. Egyszerű megközelítésben azt mondhatjuk, hogy amennyiben a fenotípusos tranzíciók mintázata eltér a véletlenszerűtől, akkor kényszereket sejtethetünk a háttérben meghúzódni (Maynard-Smith *et al.* 1985). A jelen munka szempontjából a biokémiai és a genetikai (filétikus) kényszerek felismerése lehet jelentős. Ez utóbbi törzsfajlódási kanalizációt jelent: például a gerincesek közül a teknősöknek mindig nyolc, az emlősöknek pedig két kivételtől eltekintve (Manátifélék és Vendégízületesek) mindig hét nyakcsigolyájuk van. Nehéz elképzelni, hogy a teknősöknek nyolc, ellenben az emlősöknek a cickányoktól a bálnákig a hét nyakcsigolya lenne az optimális (Seger és Stubblefield 1996), mindez egyszerűen inkább egy rögzült evolúciós örökség.

9.2 melléklet a pajzsmirigy hormonok metabolizmusáról

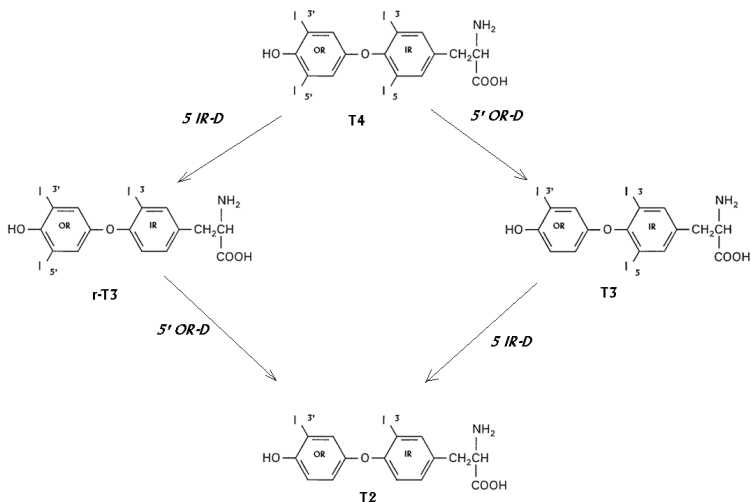
Az alábbiakban Rudas (1994), van der Geyten *et al.* (1999), De Groef *et al.* (2005) és Kühn *et al.* (2005) munkái alapján adok rövid ismertetést a madarak pajzsmirigy metabolizmusáról. A PH metabolizmusára is jellemző a gerincesekre általánosan érvényes négyes hierarchikus rendszer, ahol az egyes szintek visszacsatolásával (feed back) valósul meg az oda-vissza irányuló szabályozás: hipotalamusz → hipofízis → pajzsmirigy → perifériás szervek/szövetek. A hipotalamusz thyrotropin-releasing hormont (TRH) szekretál, amely a portális keringésen keresztül közvetlenül a hipofízis adenohipofizeális területére érkeve serkenti a tiroid-stimuláló hormon (TSH) termelődését. A TSH a véráramba jutva stimulálja a pajzsmirigyet. A pajzsmirigy három PH-t szekretál; a tiroxint (T4), a trijód-tironint (T3) és a reverz-trijód-tironint (r-T3). Ez utóbbi kettő 3, míg a tiroxin 4 jódatomot tartalmaz (17. ábra).



17. ábra A trijód-tironin (T3) és a tiroxin (T4) szerkezeti képlete. OR= outer ring (külső fenolos gyűrű), IR= inner ring (belső tirozil gyűrű).

Mennyiségileg a pajzsmirigy elsősorban T4-et termel, a T3 szintézis kisebb mértékű, a r-T3 mennyisége pedig szinte elhanyagolható. A pajzsmirigyből kiszabaduló T4 a perifériákra kerülve képes aktiválódni vagy inaktiválódni az ún. intracelluláris dejedáz rendszer segítségével. Az aktivációs út során a T4-ből T3 lesz, inaktiváció során r-T3. A három hormon közül biológiailag a T3-receptorkomplex az aktív, amely a sejtmagban a DNS megfelelő régiójára kötődve fejti ki hatását. A perifériás szövetek illetve szervek között megkülönböztetünk hormon exportáló szöveteket (máj, vese), amelyek az extra-celluláris T3 szintet emelik. Vannak ugyanakkor olyan hormon importáló szövetek (pl. placenta, barna zsírszövet, idegszövet), amelyek a véráram T4 szintjétől független intracelluláris T3 szintet tartanak fenn.

A négy jódatomot tartalmazó T4 jódfosztását a dejodáz rendszer végzi. Madaraknál alapvetően 3 dejodáz enzimet (D1, D2, D3) különítünk el. A dejodáz enzimek csoportosíthatók aszerint, hogy a külső fenolos gyűrűn (outer ring deiodination, OR-D) lévő 3' - 5', vagy a belső tirozil gyűrűn (inner ring deiodination, IR-D) lévő 3 - 5 jódatomot képesek-e lehasítani (18. ábra).



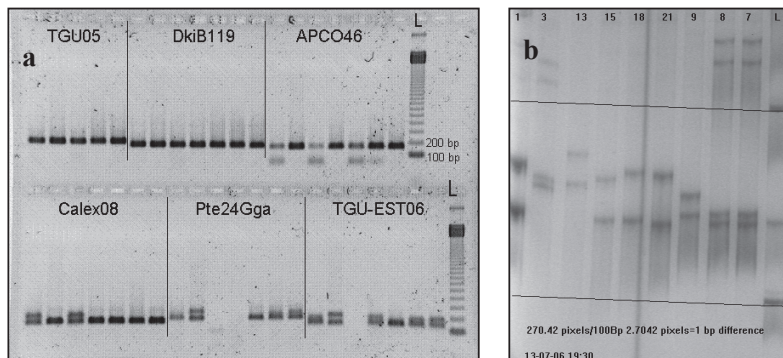
18. ábra A dejodáz enzimek működése. A tiroxinból (T4) reverz-trijód-tironin (r-T3) keletkezik, ha a belső tirozil gyűrűről hasad le a jódatom (5' IR-D). Trijód-tironint (T3) kapunk, ha a külső fenolos gyűrű 5' jódatomja távozik (5' OR-D). Mind a r-T3, mind a T3-ból további jódvessztéssel eljuthatunk a dijód-tironinig (T2).

I. típusú dejodáz enzim (D1): Fő funkciója az extracelluláris T3 termelés, főként hormonexportáló szövetekben fordul elő (máj, vese, pajzsmirigy). A vérplazma T3 szintjének beállításáért nagyban felel. IR-D és OR-D aktivitása egyaránt van, aktivitását az elérhető T4 koncentráció nagyban befolyásolja. Az enzim feltehetően két szubsztrátos, ahol a kofaktor lehet szulfhidril csoportot tartalmazó vegyület (NADPH), vagy energiaekvivalens (H^+).

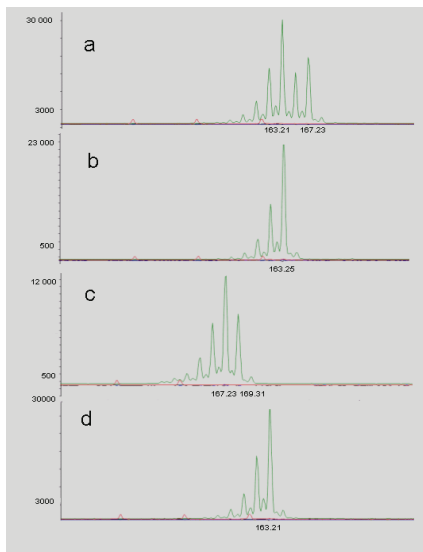
II. típusú dejodáz enzim (D2): Fő funkciója bizonyos életfontosságú szervekben (központi idegrendszer, placenta, hipofízis) az extracelluláris T4 szinttől független T3 szint biztosítása. 5' OR-D aktivitása van, legfontosabb szubsztrátja a T4, amelyből T3 keletkezik, de az nem kerül be a keringésbe, hanem sejten belül használdódik fel.

III. típusú deiodáz (D3): Legfontosabb funkciója a plazma T3 szintjének csökkentése a T3 inaktiválásán keresztül. Csak 5 IR-D aktivitása van, legfontosabb szubsztrátja a T3. Nagy koncentrációban expresszálódik az agyban, placentában és a bőrben.

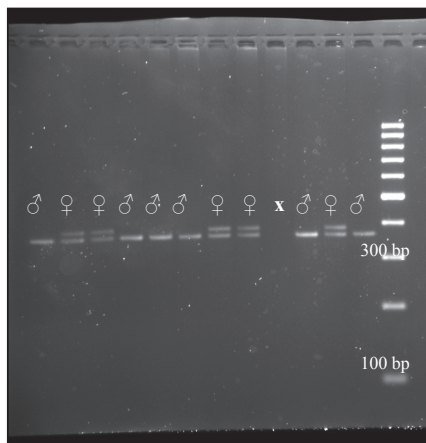
9.3 melléklet a DNS-laboratóriumi módszerekről



19. ábra A) 1,5% agaróz gélen történő futtatás képe: hat újonnan tesztelt primer 7-7 gyöngybagoly egyeden. Az agaróz gélen látható, hogy mely primerek „dolgoznak” a gyöngybaglyon, milyen mérettartományban kapunk termékeket (itt kb. 200 bp), és hogy a gél gyenge felbontása ellenére látható némi variancia is a különféle lokuszokon. A későbbi szekvenálások során kiderült, hogy az itt tesztelt 6 primer közül csak a TGU-EST06 primer variábilis és használható jól gyöngybagolynál. A többi primer vagy nem specifikus terméket szaporított fel, vagy nem volt variábilis az adott szakaszon. B) Az ígéretesnek kinéző TGU-EST06 nagyobb felbontást lehetővé tevő futtatása (nem denaturáló PAGE, 8% (19:1) 24 cm hosszú, 500 V, 40mA, 12 h, ezüst-nitrát festés). L= DNS létra.



20. ábra Automata szekvenáló elektroferogramja a TGU-EST06 lókusszal 4 genetikailag független egyedről. A dinukleotid motívummal rendelkező lókusz mintázata jól kiismerhető. Az a) ábra heterozigóta egyedet mutat, ahol a hosszabb (167 bp) allél alacsonyabb csúcsot ad, mint a 4 bázispárral rövidebb 163 bp hosszú allél. A hosszabb allélekből általában kevesebb PCR termék keletkezik. A „stutter band”-ek csúcsai két-két bázispárral rövidebbek a főcsúcsnál. A b) és d) ábrákon két azonos genotípusú homozigóta egyedet látunk 163 bp hosszú alléllal. A c) ábrán a két allél közötti különbség csak 2 bp. (A c ábrán szereplő minta valószínűleg kevesebb terméket adott a PCR reakcióban, így a fluoreszcensen jelölt primerek gyengébb jelet adtak, ami miatt az y tengely skálázása eltérő).



21. ábra P2/P8 ivarmeghatározó primerpárral végzett szexálás gélképe. A hímek két azonos (ZZ), míg a nőstények két eltérő ivari kromoszómával (WZ) rendelkeznek. A PCR reakció során felszaporított régió hímekben egy (kb. 360 bp Z), tojóknban két sáv (360-380 bp, Z és W) formájában jelenik meg. Az „X” minta nem adott PCR reakciót. Az elválasztás 2,0%-os agaróz gélen zajlik, 100V, 120 min.

9.4 melléklet a palacknyak-hatást kimutató statisztikai eljárásokról

Egy olyan populációban, ahol a mutáció és drift egyensúlyban van (vagyis az effektív populációméret konstans volt a közelmúltban), annak a valószínűsége, hogy egy lókusz heterozigócia túlsúlyt vagy deficitet mutat, közel azonos. Annak meghatározására, hogy vajon egy populáció jelentős számú lókuszon mutat-e heterozigócia túlsúlyt, különféle tesztek léteznek. A BOTTLENECK program „standardized differences test”-je (Cornuet és Luikart 1996) minimum 20 polimorf lókusszal tud csak dolgozni, míg a "Wilcoxon sign-rank test" (Luikart és Cornuet 1997) viszonylag nagy statisztikai erővel akár már 4 polimorf lókusszal képes megbízható eredményt adni. Ez utóbbira ajánlott mintaszám ennek ellenére legkevesebb 15-40 egyed és 10-15 polimorf lókusz. A statisztikai erőt szem előtt tartva a Wilcoxon tesztet használjuk a populációs palacknyak-hatás vizsgálatára 5-58 egyedre és 20 polimorf lókuszra. 15 vagy kevesebb egyedből álló minta esetén 5 független random mintavétel szignifikáns eredményeinek arányát adtuk meg a Wilcoxon teszt p értékére.

A Wilcoxon teszt egyoldalú teszt, mivel csak a heterozigócia túlsúly érdekes a palacknyak-hatás bizonyítása szempontjából. Ha a $p > 0,05$, vagyis nem szignifikáns a teszt, akkor

$$H_e - H_{eq} = \sim 0,$$

vagyis $H_e = H_{eq}$. Ekkor nem lehet elvetni, hogy a populációban a mutáció és a drift egyensúlyban van, vagyis a közelmúltban a populáció egyedszáma közel állandó volt, nincs tehát palacknyak-hatás. Ha a Wilcoxon teszt $p < 0,05$, akkor

$$H_e - H_{eq} > 0,$$

vagyis $H_e > H_{eq}$, így elvethetjük, hogy a populáció a közelmúltban folyamatosan azonos létszámmal maradt fenn, a bottleneckre vonatkozó feltételezésünket elfogadjuk (Laroch és Durand 2004).

10. Összefoglalás

A gyöngybagoly (*Tyto alba*) trópusi, szubtrópusi klíma alatt evolválódott faj, amely meghódította a szélsőségesebb időjárási viszonyokkal jellemezhető kontinentális éghajlatú területeket is. Közép-Európában a gyöngybaglyok legfontosabb természetes halálozási oka a szélsőséges téli időjárás (tartós hó és fagy). A téli időjárási szélsőségek gyakorisága kimutathatóan nő a Kárpát-medencében a globális klímaváltozás következményeként, ez befolyásolhatja a hazai gyöngybagoly-populáció dinamikáját. A jelen dolgozatban arra kerestem a választ, hogy a meleg klímán történt evolválódásnak milyen természetvédelmi, életteni és genetikai következményei lehetnek a magyarországi gyöngybagoly populációra a szélsőséges téli időszakokat követően.

1) Magyarországon a gyöngybagoly emberi védelemtől nagyban függő faj, és a populáció dinamikát befolyásolja az elérhető költőhelyek száma és minősége. Megvizsgáltuk, hogy a költőládában kikelt fiókák túlélése különbözik-e az egyéb költőhelyen kikelt egyedekétől, és hogy ennek milyen hatása lehet a populációdinamikára.

2) A második vizsgálat során leírtam a legjellemzőbb pajzsmirigy hormonmintázatokat különböző korú és ivarú csoportoknál, továbbá vizsgáltam a pajzsmirigy hormonok szerepét a gyöngybaglyok hőszabályozásában, anyagcseréjében.

3) Populációgenetikailag érdekes jelenség, hogy a gyöngybaglyok időről-időre átmennek egy populációs beszűkülésen a szélsőséges telek hatására. Felmerült a kérdés, vajon mindez megjelenik-e a genetikai háttér időszakos elszegényedésében is (genetikai palacknyak-hatás)?

A dolgozat legfontosabb eredményei

1. A költőhelyek hatása a fiatal gyöngybaglyok túlélésére

- 1.1 A fiókaként jelölt madarak közül a költőládában gyűrűzöttek nagyobb arányban kerültek meg elhullva, mint a szabad templomtoronyban jelölt egyedek.
- 1.2 A különbség az első életévben, a gyűrűzést követő első 50 nap után volt a legjelentősebb.
- 1.3 A kikelési idő nem befolyásolta a fiókák túlélését.

2. Pajzsmirigy hormonok mintázatának leírása

- 2.1 A kornak szignifikáns hatása volt a plazma T4 koncentrációjára: az 51 napnál fiatalabb fiókák T4 szintje volt a legmagasabb, a felnőtteké a legalacsonyabb.
- 2.2 Az adult madarakat vizsgálva a hímeknek szignifikánsan magasabb volt az alap T4 szintje, mint az ivarérett tojóknak.

- 2.3 Sem a kornak, sem az ivarnak nem lehetett statisztikailag szignifikáns hatást tulajdonítani T3 alapszintje esetén.
- 2.4 Sem a TRH, sem az ivar nem volt hatással a plazma T4 szintjére a TRH injekciót követően.
- 2.5 A TRH kezelés a T3 szintet szignifikánsan emelte mindkét ivarnál és minden korosztálynál.
- 2.6 Mesterségesen hidegben tartott adult madarak T3 szintje szignifikánsan magasabb volt, mint a melegben tartott csoporté. A T4 szintben nem volt szignifikáns különbség.
- 2.7 A TRH kezelés hőmérséklettől függetlenül emelte a plazma T3 szintjét, ellenben a T4-re nem volt statisztikailag kimutatható hatással.
- 2.8 A hidegben tartott madarak csökkent érzékenységet mutattak a TRH-ra adott válaszukat tekintve.

3. Populációgenetikai kapcsolatok

- 3.1 A polimorf mikroszatellit lókuszok alapvető populációgenetikai jellemzése során nem találtunk genetikai elszegényedésre utaló jelet.
- 3.2 A „two-phased model” Wilcoxon tesztjének eredményei alapján nem lehetett palacknyak-hatást kimutatni az 58 egyedet alapul vevő populációnál.
- 3.3 A modell paramétereinek változtatásával (IAM arány emelésével) szignifikáns palacknyak-hatás mutatható ki.
- 3.4 Az L eloszlás teszt nem mutat szignifikáns eltérést.

11. Summary

The barn owl (*Tyto alba*) evolved under a tropical and subtropical climate. The recent distribution of this owl is however rather cosmopolitan and it presently occupies habitats that can be characterized by more extreme continental weather conditions. One of the most serious natural mortality factors is the harsh winter (long lasting snow cover and freezing conditions) that occur under a continental climate regime, as exists accross Hungary. With the onset of global climate change (it is proven that the frequency and amplitude of winter extremes are increasing in Central Europe) it is very likely that the population dynamics of Hungarian barn owls will be affected. In the present study I addressed the question of the likely consequences of harsh winters on the Hungarian barn owl population knowing that this species evolved under warm climate, expanded its distribution all over the world, and that changing climate can present a real challenge to survival where continental climate conditions exist. I investigated this subject from the aspects of survival, physiology (endocrinology) and population genetics.

1) The effect of nest-sites: A common method of barn owl conservation is the placement of nest-boxes in church towers. Despite the usefulness of nest-boxes, several studies have shown that there may be associated disadvantages and that nest-boxes may even act as 'ecological traps'. In theory, if one of the applied conservation methods results in lower survival, this can cause population stagnation or decline and may be ineffective in helping population recovery after a population crash. Hence, I compared the survival rate of owlets hatched in nest-boxes with those hatched in the more natural environment of church towers.

2) Physiological aspects: Thyroid hormones (THs) regulate growth and development, basal metabolic rate, and most importantly from the present viewpoint, they play critical roles in the maintenance of constant body temperature. For this reason we carried out experiments to determine barn owl thyroid patterns and the function in thermoregulation using thyrotropin releasing hormone (TRH) provocation test - the interrelation of age, gender and the patterns of the two thyroid hormones such as thyroxin (T4) and 3,3',5-triiodothyronine (T3) in wild barn owls during two breeding seasons. The responses of the thyroid functions were also investigated by measuring the THs content after a TRH challenge.

3) Population genetics aspects: Barn owl populations undergo serious population crashes from time to time as a consequence of extreme continental climate conditions. These natural population fluctuations raise the question of whether or not population genetical consequences exist, e.g. bottle-neck effect. To investigate this question we first tested and

characterised universal bird and owl-specific microsatellite primer pairs. Using a set of 24 polymorphic microsatellite primer pairs, we described the allele-diversity of the Hungarian population after a well documented population decline in 2002-2003.

The most important results are:

1. The effect of nest-sites on the survival-time of owlets

- 1.1 Birds ringed as owlets and hatched in nest-boxes were found dead in a greater ratio than those hatched in church towers.
- 1.2 The difference in survival-time was most pronounced in the first year of life, after owlets became independent from their parents.
- 1.3 The hatching time did not have any impact on survival pattern of owlets

2. Characterization of the thyroid hormones

- 2.1 The age had a significant impact on the plasma T4 level: owlets younger than 51 days had the highest concentration of T4 in the blood, whereas the adults had the lowest one.
- 2.2 Among the adults, males had significantly higher T4 plasma level than females.
- 2.3 Neither the age, nor the gender showed significant difference in the basal T3 level.
- 2.4 Neither TRH, nor the gender affected the concentration of plasma T4 after a TRH treatment.
- 2.5 TRH treatment elevated significantly T3 plasma level in every age and sex categories.
- 2.6 Higher T3 concentration could be measured in captured birds which were kept in cold.
- 2.7 TRH treatment increased plasma T3 level regardless the temperature, however, TRH did not affect T3 plasma concentration.
- 2.8 Birds kept in cold showed a lower sensitivity towards TRH treatment.

3. Population genetics

- 3.1 The population genetics parameters did not reveal any proofs of decline in genetical diversity.
- 3.2 The Wilcoxon test did not show any evidences for population bottleneck.
- 3.3 Significant bottleneck effect could be detected when parameters of the „Two-Phased Model” was altered (increasing the proportion of IAM steps).
- 3.4 The L-shape distribution test did not show any significant biases from equilibrium populations.